

## **Reactivo Oxidasa - Gotarios**

### **USO PREVISTO**

El Reactivo Oxidasa en Gotarios se utiliza en la prueba de oxidasa de Kovacs como reacción cualitativa en la identificación de bacterias gram negativas no fermentadoras y misceláneas<sup>1,2</sup>.

### **RESUMEN Y EXPLICACION**

La prueba de oxidasa se basa en la producción de una enzima denominada indofenol oxidasa. Dicha enzima oxida a un colorante redox (presente en el reactivo), lo que da como resultado un cambio de color de amarillo a morado oscuro<sup>1,2</sup>.

### **PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO**

Indofenol oxidasa, en presencia de oxígeno atmosférico, oxida el reactivo de fenilenediamina oxidasa, para formar un compuesto de color morado oscuro, el indofenol<sup>1,2</sup>.

### **REACTIVOS**

Reactivo Oxidasa en Gotarios contienen 0,5 mL de una solución acuosa al 1% de N,N,N',N'-tetrametil-p-fenilenediamina dihidrocloruro que se ha formulado con agentes para asegurar una estabilidad máxima.

### **Advertencias y Precauciones:**

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Evitar el contacto con la piel. Si se derrama, enjuagar con abundante agua.

**Instrucciones de almacenamiento:** Conservar a temperatura ambiente controlada de 15 – 30 °C. Proteger de la luz. Los droppers de reactivo no necesitan refrigeración.

**Deterioro del producto:** Este reactivo está sellado herméticamente en una ampolla, la cual protege a la solución contra la inestabilidad química hasta la fecha de caducidad. No utilizar si el color del reactivo no es amarillo claro.

### **PROCEDIMIENTO**

**Material suministrado:** Reactivo Oxidasa en Gotarios.

**Materiales necesarios pero no suministrados:** Medios de cultivo auxiliar, papel de filtro, organismos de control de calidad y equipo de laboratorio que se requiere para llevar a cabo este procedimiento.

### **Procedimiento de análisis:**

1. Mantener el envase de reactivo en posición vertical **CON LA PUNTA DIRIGIDA HACIA AFUERA**. Sujetar el envase por la parte media entre el pulgar y el dedo índice y apretarlo con cuidado para romper la ampolla dentro del dropper. **Precaución: Romper una sola vez la ampolla cerca de su parte central. No manipular más el dropper, porque puede perforarse el plástico y causar lesiones.**
2. Golpear suavemente la parte inferior del envase sobre la superficie de una mesa varias veces. Luego, invertirlo para que el reactivo pueda ser dispensado cómodamente gota a gota.
3. Preparación para el análisis
  - a. Las colonias que vayan a analizarse deben aislarse de otras colonias.
  - b. Para los análisis rutinarios se recomienda el empleo de aislamientos recientes (cultivos de 18 – 24 h).
  - c. Si el cultivo está refrigerado debe permitirse que alcance la temperatura ambiente antes del análisis.

**Nota:** Hay diversas circunstancias que pueden afectar a los resultados que se obtengan. Repasar las circunstancias que se enumeran en el apartado "Limitaciones del procedimiento".

4. Realización del análisis: método del papel de filtro
  - a. Añadir unas gotas del reactivo de la prueba de oxidasa a una banda de papel de filtro (Whatman N° 1 o equivalente).
  - b. Con un asa de platino o un palillo aplicador de madera, extender un asa llena de bacterias sobre el papel saturado de reactivo. El uso de asas de acero o níquel-cromo puede dar lugar a falsos positivos en las reacciones<sup>2</sup>.

### **Control de calidad del usuario:**

Se recomienda utilizar controles positivos (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) y negativos (*Escherichia coli* ATCC 25922) de manera simultánea con el organismo de prueba. El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda que el usuario consulte las instrucciones pertinentes del CLSI (antes NCCLS) y la normativa de la CLIA para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

## **RESULTADOS**

Las reacciones positivas hacen que el color de las bacterias cambie inmediatamente (o al cabo de 30 s como máximo) a una tonalidad violeta a púrpura. En las reacciones negativas, las muestras permanecen incoloras o adquieren un color rosa claro/morado claro después de 30 s. Las reacciones demoradas deben descartarse.

## **LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO**

Esperar un máximo de 30 s para ver si la reacción es positiva. Las reacciones demoradas deben considerarse negativas.

No añadir reactivo en exceso, ya que así la reacción puede hacerse más difusa con organismos oxidasa positivos.

Las asas de acero, de níquel-cromo o de alambre que contenga hierro pueden causar un falso positivo en la reacción<sup>3</sup>. Se recomienda el empleo de un asa de platino o un palillo aplicador de madera.

Realizar la prueba de oxidasa en bacilos gramnegativos pero, para asegurar la validez de los resultados, hacerlo **sólo** con colonias de medios **no-selectivos** y/o **no diferenciales**. Los medios selectivos o diferenciales pueden traspasar el indicador al papel de filtro y provocar resultados inexactos (reacciones con falso negativo)<sup>2</sup>.

Las colonias que hayan crecido en medios con altas concentraciones de glucosa pueden inhibir la actividad de la oxidasa<sup>3</sup>.

Con cultivos mixtos que contengan el género *Pseudomonas* y el género *Neisseria* pueden producirse falsos negativos (no todas las especies de *Pseudomonas* producen oxidasa)<sup>2</sup>.

El tiempo es de la máxima importancia para la interpretación de los resultados<sup>2</sup>.

No analizar organismos que sean anaerobios estrictos<sup>2</sup>.

Las colonias viscosas pueden dar resultados negativos debido a una penetración insuficiente del reactivo.

Las reacciones de organismos con resultado positivo débil a la oxidasa (por ejemplo, la especie *Pasteurella*) pueden dar resultados inexactos. Con los resultados que no guarden correlación con otras reacciones bioquímicas o con los organismos, se debe repetir la prueba.

## **CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO<sup>4</sup>**

La prueba de oxidasa Kovacs se aplicó a 1.660 cepas de diversos géneros, de las que 210 cepas dieron una reacción positiva y 64 cepas dieron una reacción positiva demorada. Los miembros de las especies *Neisseriaceae* y *Pseudomonadaceae* por lo general fueron positivos a la oxidasa, mientras que los miembros de las especies *Enterobacteriaceae* y, con algunas excepciones, los organismos gram positivos, fueron negativos a la oxidasa. Se obtuvieron resultados dudosos con la especie *Brucellaceae* y el género *Bacillus*

## **DISPONIBILIDAD**

**N.º ref. Descripción** 261181 **BBL** Reactivo Oxidasa en Gotarios, pqt. de 50 gotarios/caja.