

## IDENTIFICACIÓN MICROBIANA MEDIANTE EL SISTEMA VITEK 2 DE BIOMÉRIEUX.

### Introducción

VITEK 2 es un sistema que utiliza tarjetas con reactivos colorimétricos, las que son inoculadas con la suspensión de un cultivo puro microbiano y el perfil de desarrollo es interpretado de forma automática.

Las tarjetas reactivas tienen 64 pozos que contienen, cada uno, un sustrato de prueba individual. Con estos sustratos se miden varias actividades metabólicas como acidificación, alcalinización, hidrólisis enzimáticas y desarrollo en presencia de sustancias inhibitoras. Las tarjetas están selladas en ambos lados por una película clara que evita el contacto entre las diferentes mezclas sustrato-microorganismo y a la vez permite la transmisión del nivel de oxígeno apropiada. Cada tarjeta tiene un tubito de transferencia pre-insertado para la inoculación. Estas tarjetas tienen códigos de barras que contienen información sobre el tipo de producto, número de lote, fecha de caducidad y un identificador único que puede ser ligado a la muestra ya sea antes o después de cargar la tarjeta al sistema.

Existen 4 tipos de tarjetas reactivas disponibles para la identificación de diferentes clases de organismos:

1. GN – Bacilos Gram negativos fermentadores y no fermentadores.
2. GP - Cocos y bacilos no formadores de esporas Gram positivos
3. YST – Levaduras y organismos levaduriformes
4. BCL – Bacilos formadores de esporas Gram positivos.

### Materiales

#### Material por equipo:

Tarjeta GP (bioMérieux<sup>MR</sup>) para cocos y bacilos Gram positivos.

### Metodología

#### Preparación de la suspensión

- Transferir con asa estéril, a partir de un cultivo puro desarrollado durante 24 h en Agar nutritivo o TSA, una cantidad suficiente de inóculo a un tubo de ensayo de poliestireno claro de 12x75 mm que contiene 3 mL de solución salina estéril (Sol. Acuosa de NaCl 0.45% a 0.5%, pH 4.5 a 7.0).
- Ajustar la turbiedad a 0.50-0.63 unidades de la escala de McFarland con el densitómetro DensiChek<sup>TM</sup>.
- Colocar el tubo de ensayo que contiene la suspensión bacteriana dentro de la gradilla especial (cassette), y la tarjeta de identificación se coloca en la ranura cercana, insertando el tubo de transferencia dentro del tubo con la suspensión correspondiente. Colocar el cassette con las muestras en el sistema VITEK 2.

Una vez dentro del equipo, las muestras se someten a los siguientes procesos de forma automática:

#### Inoculación

Las muestras son transportadas a una cámara en la que se aplica vacío y en seguida se reintroduce nuevamente el aire, ésta acción hace que la suspensión bacteriana pase a través del tubo de transferencia hacia los microcanales que llenan todos los pozos.

#### Sellado e incubación de las tarjetas.

Las tarjetas inoculadas pasan por un mecanismo que corta los tubos de transferencia y las sella, previo a la carga dentro del carrusel-incubador. Todos los tipos de tarjetas se incuban en línea a  $35.5 \pm 1.0^\circ \text{C}$ .

#### Lectura de las reacciones.

Cada tarjeta es removida del carrusel-incubador cada 15 min, transportada al sistema óptico de transmitancia el que usa diferentes longitudes de onda del espectro visible para interpretar las reacciones de turbiedad o el color de los productos metabólicos, y devuelta a su sitio en el carrusel hasta el siguiente tiempo de lectura. Los datos son registrados a intervalos de 15 min durante el periodo de incubación total.

Los cálculos se realizan con los datos “crudos” y se comparan en los umbrales para determinar las reacciones para cada prueba. Los resultados aparecen como “+”, “-“, o cuando las reacciones son débiles estas se indican como “?”

#### Base de datos.

Las bases de datos de los productos de identificación están contruídos con un gran número de cepas de microorganismos perfectamente caracterizados y probados bajo varias condiciones de cultivo. Estas cepas provienen de una variedad de fuentes clínicas e industriales, así como de colecciones de cultivo públicas (Ejem.: ATCC) y universitarias.

### **Disposición de desechos**

1. Después del proceso las tarjetas se colocan en el contenedor rojo ubicado en el laboratorio 1A.

### **Guía para redactar la discusión de resultados**

1. ¿Qué ventajas y desventajas encuentras al utilizar este sistema respecto al método convencional y al de las galerías API<sup>MR</sup> ?

### **Literatura de consulta**

Video del funcionamiento del Eq. Vitek2: <http://www.youtube.com/watch?v=1bVlcY30YU0>  
(28/09/2012)