


# **BD BBL™ Sensi-Disc™ Antimicrobial Susceptibility Test Discs**

English: pages 1 – 2      Italiano: pagine 5 – 6  
Français: pages 2 – 3      Español: páginas 6 – 8  
Deutsch: Seiten 4 – 5

 8085891(02)  
2015-04

Contact your local BD representative for instructions. / Свържете се с местния представител на BD за инструкциите. / Pokynu vám poskytné místní zástupce společnosti BD. / Kontakt den lokale BD repræsentant for at få instruktioner. / Επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της BD για οδηγίες. / Kasutusjuhiste suhtes kontakteeruge oma kohaliku BD esindajaga. / Ota yhteyts lähimpään BD:n edustajaan ohjeiden saamiseksi. / Kontaktiraj lokalnog predstavnika BD za upute. / A használati utasítás kérje a BD helyi képviselőtől. / Нұсқаулар үшін жергілікті BD өкілімен хабарласыңыз. / Lai saņemtu norādījumus, sazinieties ar vietējo BD pārstāvi. / Naudojimo instrukcijų teiraukitės vietos BD įgaliotojo atstovo. / Neem contact op met uw plaatselijke BD-vertegenwoordiger voor instructies. / Kontakt din lokale BD-representant for mer informasjon. / Aby uzyskać instrukcje użytkowania, skontaktuj się z lokalnym przedstawicielem BD. / Contacte o reprezentante locale da BD para instruções. / Pentru instrucțiunile, contactați reprezentantul local BD. / Для получения указаний обратитесь к местному представителю компании BD. / Instrukcie získate u miestneho zástupcu spoločnosti BD. / Obratite se svom lokalnom predstavniku kompanije BD za uputstva. / Kontakta närmaste BD-representant för anvisningar. / Talimatlar için yerel BD temsilcinizle temasa geçin. / За інструкціями зверніться до місцевого представника компанії BD.

**INTENDED USE** – These discs are used for semi-quantitative *in vitro* susceptibility testing by the agar disc diffusion test procedure of fungal pathogens.

**SUMMARY AND EXPLANATION** – Agar diffusion methods employing dried filter paper discs impregnated with specific concentrations of antimicrobial agents were developed in the 1940s. In order to eliminate or minimize variability in this testing, Bauer et al. developed a standardized procedure in which Mueller Hinton Agar was selected as the test medium.<sup>1,2</sup>

Various regulatory agencies and standards-writing organizations subsequently published standardized reference procedures based on the Bauer-Kirby method. Among the earliest and most widely accepted of these standardized procedures were those published by the U.S. Food and Drug Administration (FDA)<sup>3</sup> and the World Health Organization (WHO).<sup>4,5</sup> The procedure was adopted as a consensus standard by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) and is periodically updated.<sup>6,7</sup>

A disk diffusion method for testing *Candida* species was developed and in 2004, CLSI Approved Guideline M44-A, *Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts*, was released.<sup>8</sup> The disk diffusion method often provides qualitative results 24 hours sooner than broth dilution, making antifungal susceptibility testing more readily available to some clinical laboratories and providing a reduced cost alternative. **The latest CLSI documents should be consulted for current recommendations.**

**PRINCIPLES OF THE PROCEDURE** – Discs containing antifungal agents are applied to the surface of Mueller Hinton Agar supplemented with 2% Glucose and 0.5 µg/mL Methylene Blue Dye (GMB) plates that have been inoculated with pure cultures of clinical isolates. Following incubation, the plates are examined and the zones of inhibition surrounding the discs are measured and compared with established zone size ranges for individual antifungal agents in order to determine the agent(s) most suitable for use in antimicrobial therapy.<sup>8</sup>

**REAGENTS – BD BBL™ Sensi-Disc™** brand discs are 6-mm discs prepared by impregnating high quality absorbent paper with accurately determined amounts of antibiotic or other chemotherapeutic agents. Discs are clearly marked on both sides with letters and numbers designating the agent and the drug content. (See chart containing concentrations of reactive ingredients). The drug content of discs is assayed by the methods established by the FDA or by methods similar or comparable to those published in the United States *Federal Register*.

**BD BBL Sensi-Disc** agents are furnished in cartridges containing 50 discs each. The last disc in each cartridge is marked "X" and contains the drug as coded. Cartridges are for use in **BD BBL Sensi-Disc** Dispensers; these include a Single Disc Dispenser, an 8-Place Dispenser for 100 mm-style Petri dishes, 6- and 8-Place Self-Tamping Dispensers for 100 mm-style dishes and a Self-Tamping 12-Place Dispenser for 150 mm-style plates.

**Warnings and Precautions:** For *in vitro* Diagnostic Use.

Follow directions for use; disc performance depends not only on disc potency, but on use of proper inoculum and control cultures, functional pretested plates, proper storage temperature and other factors.

Observe aseptic techniques and established precautions against microbiological hazards throughout all procedures. Sterilize cultures, containers and other contaminated materials after use.

#### **Storage Instructions:**

1. On receipt, store discs at -20 – +8°C.
2. Allow containers to come to room temperature before opening. Return unused discs to the refrigerator when application of discs has been completed. Once a cartridge of discs has been removed from its sealed packaging, it should be placed in a tightly sealed, desiccated container.
3. Use the oldest discs first.
4. Discard expired discs. Also, cartridges from which discs have been frequently removed during a week and discs left out overnight in the laboratory should be discarded, or else the discs should be tested for acceptable performance prior to continued use.
5. If the discs form incorrect zones with the recommended control organisms, the entire procedure should be checked; faulty zone size may be due to the disc, the inoculation, the preparation or depth (about 4 mm) of medium, or other factors.

The expiration date applies only to discs in intact containers, stored as directed.

**SPECIMENS** – Direct specimens should not be employed in this test. Test must be used with isolated cultures. See Directions, which include preparation of inoculum. If possible, cultures should be derived from specimens obtained from patients prior to the initiation of antifungal therapy.

#### **PROCEDURE**

**Material Provided:** Sensi-Disc™ susceptibility test discs as labeled.

**Materials Required But Not Provided:** Ancillary culture media, reagents, quality control organisms and laboratory equipment required to perform disc diffusion susceptibility testing by the standardized procedure. Prepare a 0.5 McFarland turbidity standard by adding 0.5 mL of 0.048 M BaCl<sub>2</sub> [1.175% (wt/vol) BaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O] to 99.5 mL of 0.18 M [0.36N] H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> [1% (vol/vol)]. Verify by using a spectrophotometer with a 1-cm light path and matched cuvette; absorbance at 625 nm should be 0.08 – 0.13.

#### **Directions, Including User Controls:**<sup>8</sup>

1. Preparation of inoculum with test and control cultures.
  - a. Select five distinct colonies of approximately 1 mm in diameter from a 24-hour-old culture of *Candida* species grown on blood agar or Sabouraud dextrose agar. Transfer with inoculation needle or loop into 5 mL of sterile 0.145 M NaCl (8.5g/L NaCl; 0.85% saline). Vortex for 15 s.
  - b. Dilute or add more colonies, if required, to obtain turbidity equivalent to the 0.5 McFarland turbidity standard. Alternatively, standardize the inoculum photometrically.<sup>8</sup>
2. Inoculation.
  - a. Within 15 min, dip a sterile cotton swab into the properly adjusted inoculum and rotate it firmly several times against the upper inside wall of the tube to express excess fluid.
  - b. Streak the entire agar surface of a Mueller Hinton + GMB agar plate three times, turning the plate 60° between streakings to obtain even inoculation.
  - c. The lid may be left ajar for 3 – 5 min, but no more than 15 min, to allow for any surface moisture to be absorbed before applying the drug-impregnated discs.
3. Select appropriate discs (such as recommended in CLSI M44, Tables 1 and 2).
4. Apply the discs by means of a **BD BBL** dispenser, using aseptic precautions. Deposit discs so that the centers are at least 24 mm apart. If discs have been placed on the agar with other than the Self-Tamping Dispensers, press them down with a sterile needle or forceps to make contact with the surface.
5. Within 15 min, place the plates agar side up in a 35 ± 2°C incubator.
6. Examine the plates after 20 – 24 h of incubation. The diameters of the zones of complete inhibition are measured, as determined by gross visual inspection. Zones are measured to the nearest whole millimeter. For further details in measuring zones of inhibition, consult CLSI M44.<sup>8</sup> If only isolated colonies grow, the inoculum is too light and the test should be repeated. Zones around discs containing different drugs are not comparable for the purpose of comparing activity of drugs. Read at 48 h only when insufficient growth is observed after 24 h of incubation.
7. Control tests using recommended cultures should be included each day susceptibility testing is performed or weekly if satisfactory performance can be documented according to the CLSI standard.<sup>8</sup>

**RESULTS**<sup>8</sup>– NOTE: Recommended interpretive criteria are based on usual dosage regimens and routes of administration in the U.S.

The susceptible (S) category implies that isolates are inhibited by the usually achievable concentrations of antifungal agent tested when the recommended dosage is used for the site of infection. The intermediate (I) category implies that an infection due to the isolate may be appropriately treated in body sites where the drugs are physiologically concentrated or when a high dosage of drug is used. The resistant (R) category implies that isolates are not inhibited by the usually achievable concentrations of the agent with normal dosage schedules and clinical efficacy of the agent against the isolate has not been reliably shown in treatment studies.

#### **LIMITATIONS OF THE PROCEDURE**

1. The classifications of resistant (R), intermediate (I) and susceptible (S) vary only by one millimeter, which is within normal laboratory error. Some cultures may give a borderline zone that varies from day to day or from laboratory to laboratory; such cultures are relatively uncommon.
2. Antifungal agents other than those listed in the Chart may be in current use. Susceptibility tests employing these agents should be interpreted on the basis of presence or absence of a definite zone of inhibition and should be considered as only qualitative until such time as interpretive zones have been established. All zone diameters should be recorded.

#### **AVAILABILITY**

Cat. No.	Description
232201	<b>BD BBL™ Sensi-Disc™</b> Fluconazole, 25 µg
232202	<b>BD BBL™ Sensi-Disc™</b> Voriconazole, 1 µg

#### **REFERENCES**

1. Bauer, A.W., W.M.M. Kirby, J.C. Sherris, and M. Turck. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.* 45:493-496.
2. Ryan, K.J., F.D. Schoenkecht, and W.M.M. Kirby. 1970. Disc sensitivity testing. *Hospital Practice* 5:91-100.
3. Federal Register. 1972. Rules and regulations. Antibiotic susceptibility discs. *Fed. Regist.* 37:20525-20529. Erratum, 38:2756, 1973.
4. Ericsson, H.M., and J.C. Sherris. 1971. Antibiotic sensitivity testing. Report of an international collaborative study. *Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sec. B. Suppl.* 217:1-90.
5. World Health Organization Expert Committee on Biological Standardization. 1977. Technical report series 610. W.H.O., Geneva.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2006. Approved standard M2-A9. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, 9th ed. CLSI, Wayne, Pa.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008. M100-S18 (M2). Disk Diffusion Supplemental Tables, CLSI, Wayne Pa.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2004. Approved guideline M44-A. Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts, CLSI, Wayne Pa.

Technical Information: In the United States, contact BD Technical Service and Support at 800-638-8663 or [www.bd.com/ds](http://www.bd.com/ds).

Zone Diameter Interpretive Chart†									
			Zone Diameter Interpretive Standards (mm)			Control Zone Diameter Limits (mm)			
Antifungal Agent	Disc Code	Disc Potency	R	I	S	<i>C. albicans</i> ATCC® 90028	<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	<i>C. tropicalis</i> ATCC 750	<i>C. krusei</i> ATCC 6258
Fluconazole <sup>a</sup>	FCA-25	25 µg	≤14	15-18	≥19	28-39	22-33	26-37	– <sup>b</sup>
Voriconazole	VOR-1	1 µg	≤13	14-16	≥17	31-42	28-37	– <sup>b</sup>	16-25

† Interpretive criteria and quality control recommendations from the FDA-approved drug labeling. Interpretive criteria and quality control adapted in part from CLSI Document M44-A: Disk Diffusion Tables, Performance Standards for Susceptibility Testing of Yeasts, with permission. The complete standard may be obtained from the Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA

<sup>a</sup> Isolates of *C. krusei* are assumed to be intrinsically resistant to fluconazole, and their MICs should not be interpreted using this scale.

<sup>b</sup> A quality control range has not been established for this strain/antimicrobial agent combination due to its extensive interlaboratory variation during initial quality control studies.

## **BD BBL Sensi-Disc Antimicrobial Susceptibility Test Discs** (Disques pour antibiogramme)

Français

**APPLICATION** – Ces disques sont utilisés pour une évaluation semi-quantitative *in vitro* de la sensibilité aux antibiotiques des pathogènes fongiques par un antibiogramme par diffusion sur disque en gélose.

**RESUME ET EXPLICATION** – Les méthodes de diffusion en gélose utilisant des disques en papier filtre séchés contenant des concentrations déterminées en agents antimicrobiens ont été mises au point au cours des années 40. Afin d'éliminer ou de minimiser la variabilité inhérente à ce type de test, Bauer et al. ont mis au point une procédure standardisée dans laquelle la gélose Mueller Hinton était le milieu choisi pour le test.<sup>1,2</sup>

Divers organismes de réglementation et de rédaction des normes ont ensuite publié des procédures standardisées de référence en se basant sur la méthode Bauer-Kirby. Les normes de la Food and Drug Administration (FDA)<sup>3</sup> américaine et de l'Organisation mondiale de la santé (OMS)<sup>4,5</sup> figurent parmi les procédures standardisées les plus anciennes et les plus suivies. La procédure a été adoptée comme norme consensuelle par le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) et fait l'objet de mises à jour périodiques.<sup>6,7</sup>

Une méthode de diffusion sur disque a été mise au point pour tester les espèces de *Candida* et en 2004, le CLSI a émis la directive approuvée M44-A, *Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts*.<sup>8</sup> La méthode de diffusion sur disque donne souvent des résultats qualitatifs 24 heures plus tôt que la méthode de dilution de bouillon, ce qui facilite les tests de sensibilité antifongique pour certains laboratoires cliniques et constitue une alternative plus économique. **Il est recommandé de se reporter aux publications du CLSI les plus récentes pour consulter les recommandations actuelles.**

**PRINCIPES DE LA METHODE** – Des disques contenant des agents antifongiques sont déposés sur la surface de gélose Mueller Hinton additionnée de 2 % glucose et 0,5 µg/mL de bleu de méthylène (GMB) en boîte de Pétri, inoculée avec des cultures pures d'isolats cliniques. Après incubation, les boîtes de Pétri sont examinées et les zones d'inhibition entourant les disques sont mesurées et comparées aux gammes de taille de zone établies pour les différents agents antifongiques afin de déterminer l'agent ou les agents les plus adéquats pour le traitement antimicrobien.<sup>8</sup>

**REACTIFS** – Les disques **BD BBL Sensi-Disc** sont des disques de 6 mm fabriqués à partir de papier absorbant de haute qualité imprégné d'antibiotiques ou d'autres agents chimiothérapeutiques en quantités déterminées de manière précise. Les disques sont clairement identifiés des deux côtés par des lettres et des chiffres désignant l'agent et sa concentration. (Voir le tableau des concentrations des composants actifs.) La teneur en agent des disques est mesurée par les méthodes définies par la FDA ou par des méthodes similaires ou comparables à celles publiées dans le *Federal Register* américain.

Les agents **BD BBL Sensi-Disc** sont fournis en cartouches de 50 disques chacune. Un « X » sur le dernier disque de chaque cartouche indique que celui-ci contient le médicament codé. Les cartouches doivent être utilisées dans les distributeurs **BD BBL Sensi-Disc**. Il existe plusieurs modèles de distributeurs : un distributeur de disque unique, un distributeur de 8 disques pour les boîtes de Pétri 100 mm, des distributeurs auto-applicateurs de 6 et 8 disques pour les boîtes 100 mm, un distributeur auto-applicateur de 12 disques pour les boîtes 150 mm.

**Avvertissements et précautions** : Pour le diagnostic *in vitro*.

Suivre le mode d'emploi ; les performances des disques dépendent non seulement de l'activité des disques, mais également de l'utilisation de cultures de contrôle et d'échantillons adéquats, de boîtes de Pétri fonctionnelles pré-testées, d'une température de stockage adéquate et d'autres facteurs.

Respecter les techniques d'asepsie et prendre les précautions en vigueur contre les dangers microbiologiques. Après usage, stériliser les cultures, les récipients et tout le matériel contaminé.

**Instructions pour la conservation** :

- Dès réception, conserver les disques entre -20 et +8 °C.
- Laisser les cartouches se réchauffer jusqu'à atteindre la température ambiante avant de les ouvrir. Remettre les disques inutilisés au réfrigérateur une fois la pose des disques terminée. Une fois qu'une cartouche de disques a été retirée de son emballage scellé elle doit être placée dans un récipient hermétiquement fermé avec un agent desséchant.
- Utiliser les disques les moins récents en premier.
- Jeter les disques dont la date de péremption est dépassée. Jeter également les cartouches dont on a fréquemment prélevé les disques durant la semaine. Jeter tout disque laissé à température ambiante pendant toute une nuit, ou en vérifier le niveau acceptable de performance avant de continuer à l'utiliser.
- Si les zones d'inhibition formées par les disques avec les organismes de contrôle conseillés ne sont pas conformes, la procédure doit être vérifiée dans sa totalité ; cette erreur peut être due au disque, à l'ensemencement, à la préparation ou à la profondeur (environ 4 mm) du milieu, ou encore à d'autres facteurs.

La date de péremption s'applique uniquement aux disques contenus dans des cartouches intactes conservées conformément aux instructions.

**ECHANTILLONS** – Ce test ne doit pas être appliqué directement à des échantillons. Il doit être effectué sur des cultures pures. Voir la rubrique Instructions pour la préparation de l'inoculum. Dans la mesure du possible, les cultures doivent être préparées à partir d'échantillons prélevés avant le début de tout traitement antifongique.

### METHODE

**Matériel fourni** : Disques **BD BBL Sensi-Disc** pour antibiogrammes, comme indiqué sur l'étiquette.

**Matériaux requis mais non fournis** : Milieux de culture auxiliaires, réactifs, microorganismes de contrôle de qualité et matériel de laboratoire nécessaires pour réaliser des antibiogrammes par la méthode de diffusion sur disque en gélose selon la procédure standardisée. Préparer un standard de turbidité McFarland 0,5 en ajoutant 0,5 mL de BaCl<sub>2</sub> 0,048 M [1,175 % (poids/vol.) BaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O] à 99,5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> [1 % (vol./vol.)] 0,18 M [0.36N]. Vérifier à l'aide d'un spectrophotomètre de 1 cm de raie spectrale et de la cuvette correspondante ; l'absorption à 625 nm doit être comprise entre 0,08 et 0,13.

**Instructions, y compris les contrôles réalisés par l'utilisateur** <sup>8</sup>

- Préparation de l'inoculum avec les cultures de contrôle et les cultures de l'échantillon à analyser.
  - Sélectionner cinq colonies distinctes d'environ 1 mm de diamètre dans une culture âgée de 24 heures d'espèces de *Candida*, mise en culture sur une gélose au sang ou une gélose Sabouraud au dextrose. Transférer avec un ensemencement à fil droit ou anse dans 5 mL d'une solution stérile 0,145 M de NaCl (8,5 g/L NaCl ; 0,85 % de sérum physiologique). Agiter au vortex pendant 15 s.
  - Diluer ou ajouter d'autres colonnies, si nécessaire, pour obtenir une turbidité équivalente à un standard de turbidité McFarland 0,5. Sinon ajuster l'inoculum à la norme photométriquement.<sup>8</sup>
- Ensemencement.
  - Dans les 15 min qui suivent la préparation, tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum correctement dilué et le faire tourner plusieurs fois en le pressant fermement contre la paroi interne du haut du tube pour en extraire l'excès de bouillon.
  - Inoculer trois fois toute la surface d'une gélose Mueller Hinton + GMB en boîte de Pétri, en tournant chaque fois la boîte de 60° de façon à assurer un ensemencement uniforme.
  - Le couvercle de la boîte peut être laissé ouvert pendant 3 – 5 min, sans dépasser 15 min, pour que toute humidité présente en surface soit résorbée avant la pose des disques imprégnés d'agents antifongiques.
- Sélectionner les disques appropriés (comme recommandé dans les tableaux 1 et 2 de CLSI M44).
- Déposer les disques avec un distributeur **BD BBL** en respectant les précautions d'asepsie habituelles. Placer les disques de telle sorte que leurs centres soient distants d'au moins 24 mm. Si les disques sont déposés sur la gélose sans utiliser un distributeur auto-applicateur, appuyer sur les disques avec une aiguille ou une pince stérile pour assurer le contact avec la surface de la gélose.
- Dans les 15 min qui suivent, placer les boîtes de Pétri avec le côté gélose tourné vers le haut dans un incubateur à 35 ± 2 °C.
- Examiner les boîtes après 20 à 24 h d'incubation. Les diamètres des zones d'inhibition totale sont mesurés sur la base d'une inspection visuelle. Les mesures sont arrondies au millimètre le plus proche. Pour plus d'informations sur la mesure des zones d'inhibition, se reporter à la référence CLSI M44.<sup>8</sup> Si l'on observe uniquement la croissance de colonies isolées, l'inoculum n'est pas assez dense et le test doit être répété. Les zones situées autour des disques contenant différents agents antimicrobiens ne doivent pas être utilisées à des fins de comparaison de l'activité de ces agents. Lire les boîtes de pétri au bout de 48 h seulement si une croissance insuffisante est observée au bout de 24 h d'incubation.
- Des tests de contrôle utilisant les cultures recommandées doivent être inclus chaque jour où un antibiogramme est réalisé, ou une fois par semaine si les performances sont satisfaisantes, conformément à la norme CLSI.<sup>8</sup>

**RÉSULTATS**<sup>9</sup> – REMARQUE : Les critères d'interprétation recommandés sont basés sur les schémas posologiques et les voies d'administration habituelles aux Etats-Unis.

La classe sensible (S) signifie que les isolats sont inhibés par les concentrations normalement obtenues de l'agent antifongique testé lorsque les doses recommandées sont utilisées sur le site d'infection. La catégorie (I) signifie que l'infection due à l'isolat pourrait être correctement traitée dans des sites de concentration physiologique du médicament ou si des fortes doses du médicament est utilisée. La catégorie (R) signifie que les isolats ne sont pas inhibés par les concentrations normalement obtenues par l'administration d'une posologie normale de l'agent et que l'efficacité clinique de l'agent vis-à-vis de cet isolat n'a pas été démontrée de manière sûre dans les études de traitement.

### LIMITES DE LA METHODE

- Les classifications Résistant (R), Intermédiaire (I) et Sensible (S) varient seulement d'un millimètre, ce qui correspond à une marge d'erreur courante en laboratoire. Certaines cultures peuvent donner une taille de zone de taille limite variant selon la journée ou le laboratoire ; ce type de culture est relativement rare.
- D'autres agents antifongiques que ceux cités dans le tableau sont parfois utilisés. Les tests de sensibilité à ces agents doivent être interprétés en se basant sur la présence ou l'absence d'une zone d'inhibition nette, et considérés uniquement comme qualitatifs en attendant que les zones d'interprétation soient établies. Tous les diamètres des zones doivent être relevés.

### CONDITIONNEMENT

N° réf.	Description
232201	<b>BD BBL Sensi-Disc</b> Fluconazole, 25 µg
232202	<b>BD BBL Sensi-Disc</b> Voriconazole, 1 µg

**REFERENCES** : voir la rubrique "References" du texte anglais.

Service et assistance technique de BD Diagnostics : contacter votre représentant local de BD.



Tableau d'interprétation du diamètre de la zone†									
		Normes d'interprétation du diamètre de la zone (mm)			Limites du diamètre de la zone de contrôle (mm)				
Agent antifongique	Code du disque	Activité du disque	R	I	S	<i>Candida albicans</i> ATCC 90028	<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	<i>C. tropicalis</i> ATCC 750	<i>C. krusei</i> ATCC 6258
Fluconazole <sup>a</sup>	FCA-25	25 µg	≤14	15-18	≥19	28-39	22-33	26 – 37	– <sup>b</sup>
Voriconazole	VOR-1	1 µg	≤13	14-16	≥17	31-42	28-37	– <sup>b</sup>	16-25

† Critères d'interprétation et recommandations de contrôle de la qualité de l'étiquetage des médicaments approuvés par la FDA. Critères d'interprétation et contrôle de qualité adaptés en partie du document M44-A du CLSI : Tableaux supplémentaires de la diffusion sur disque, Performance Standards for Susceptibility Testings of Yeasts [Normes de performances pour tests de la sensibilité des levures], avec autorisation. La norme complète peut être obtenue auprès du Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 Etats-Unis.

<sup>a</sup> Les isolats de *C. krusei* sont posés par hypothèse comme étant intrinsèquement résistants au fluconazole, et leurs CMI ne doivent pas être interprétés à l'aide de cette échelle.

<sup>b</sup> Aucune gamme de contrôle de qualité n'a été établie pour cette combinaison de souche/agent antifongique du fait d'une importante variation entre laboratoires au cours des études initiales de contrôle qualité.

# BD BBL Sensi-Disc Antimicrobial Susceptibility Test Discs (Blättchen zur antimikrobiellen Empfindlichkeitsprüfung)

Deutsch

**VERWENDUNGSZWECK** – Diese Blättchen sind zur halbquantitativen *In-vitro*-Empfindlichkeitsprüfung von pilzartigen Erregern mit Hilfe des Agar-Blättchen-Diffusionsverfahrens bestimmt.

**ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG** – Agar-Diffusionsverfahren unter Verwendung von getrockneten Filterpapierblättchen, die mit bestimmten Konzentrationen von antimikrobiellen Substanzen imprägniert sind, wurden in den 40er Jahren entwickelt. Um die Testvariabilität zu minimieren oder auszuschalten, entwickelten Bauer et al. ein Standardverfahren, bei dem Mueller-Hinton-Agar als Testmedium verwendet wird.<sup>1,2</sup>

Im Anschluss daran veröffentlichten mehrere Ausführungsbehörden und Organisationen zur Festlegung von Normen Standard-Referenzverfahren auf der Grundlage der Bauer-Kirby-Methode. Zu den frühesten und gebräuchlichsten dieser Standardverfahren gehörten die von der U.S. Food and Drug Administration (FDA)<sup>3</sup> und der Weltgesundheitsorganisation (WHO)<sup>4,5</sup> veröffentlichten Methoden. Das Verfahren nach Bauer-Kirby wurde von dem Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) als gemeinsamer Standard anerkannt und wird regelmäßig aktualisiert.<sup>6,7</sup>

Eine Blättchen-Diffusionsmethode zum Testen von *Candida*-Spezies wurde entwickelt, und 2004 wurde die CLSI-Richtlinie M44-A, *Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts*, veröffentlicht.<sup>8</sup> Mit der Blättchen-Diffusionsmethode werden qualitative Ergebnisse 24 Stunden früher als mit der Bouillondilution erzielt, wodurch die antimykotische Empfindlichkeitsprüfung für einige klinische Labors einfacher durchführbar ist, und eine kostengünstigere Alternative bereitgestellt wird. **Für die derzeit geltenden Empfehlungen wird auf die aktuellen CLSI-Dokumente verwiesen.**

**VERFAHRENSGRUNDLAGEN** – Blättchen mit antimykotischen Substanzen werden auf die Oberfläche von Mueller-Hinton-Agarplatten mit 2 % Glucose und 0,5 µg/mL Methylenblau (GMB) gebracht, die mit Reinkulturen klinischer Isolate beimpft wurden. Nach der Inkubation werden die Platten untersucht, die Hemmzonen um die Blättchen gemessen und dann mit festgelegten Hemmzonen für einzelne antimykotische Substanzen verglichen, um die Substanzen zu bestimmen, die für eine antimikrobiellen Therapie am besten geeignet sind.<sup>8</sup>

**REAGENZIEN** – **BD BBL Sensi-Disc**-Blättchen sind 6 mm große Blättchen, die hergestellt werden, indem hochwertiges Filterpapier mit genau bestimmten Mengen Antibiotika oder anderen chemotherapeutischen Substanzen imprägniert wird. Die Blättchen besitzen auf beiden Seiten eindeutig erkennbare Buchstaben und Ziffern zur Identifizierung der Substanz und zur Angabe der verwendeten Wirkstoffmenge. (Vgl. die Tabelle mit den Konzentrationen der reaktiven Bestandteile.) Die in den Blättchen enthaltene Arzneimittelmenge wird mit von der FDA festgelegten Methoden oder mit Methoden, die denen im US-Bundesregister (United States Federal Register) ähnlich sind oder gleichen, bestimmt.

Die **BD BBL Sensi-Disc**-Substanzen werden in Kartuschen zu jeweils 50 Blättchen geliefert. Das letzte Blättchen in jeder Kartusche ist mit einem „X“ gekennzeichnet und enthält das durch den Code ausgewiesene Antibiotikum. Die Kartuschen werden in **BD BBL Sensi-Disc**-Dispensern verwendet; es sind dies ein 1-Blättchen-Dispenser, ein 8-Blättchen-Dispenser für Petrischalen von 100 mm und 6- bzw. 8-Blättchen-Dispenser mit automatischer Andruckvorrichtung für Petrischalen von 100 mm sowie ein 12-Blättchen-Dispenser mit automatischer Andruckvorrichtung für Petrischalen von 150 mm.

**Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen:** *In-vitro*-Diagnostikum.

Die Gebrauchsanleitung befolgen. Die Leistungsfähigkeit der Blättchen hängt nicht nur von der Substanzkonzentration auf den Blättchen, sondern auch von der Verwendung eines geeigneten Inokulums und geeigneter Kontrollkulturen, funktionsfähiger, vorgetesteter Platten, vorschriftsmäßiger Lagerungstemperatur sowie weiteren Faktoren ab.

Der Umgang mit mikrobiologischem Material sollte bei allen Verfahren unter Einhaltung aseptischer Arbeitsweise und der allgemein üblichen Vorsichtsmaßnahmen erfolgen. Nach Gebrauch Kulturen, Behälter und andere kontaminierte Materialien sterilisieren.

## Aufbewahrung:

- Nach Erhalt die Blättchen bei -20 bis +8 °C lagern.
- Behälter vor dem Öffnen auf Raumtemperatur erwärmen lassen. Nach dem Dispensieren die unbenutzten Blättchen wieder im Kühlschrank aufbewahren. Nachdem eine Kartusche mit Blättchen einmal aus der versiegelten Verpackung entnommen wurde, sollte sie in einem fest versiegelten, trockenen Behälter aufbewahrt werden.
- Die ältesten Blättchen zuerst verwenden.
- Verfallene Blättchen entsorgen. Außerdem sollten Kartuschen, aus denen während einer Woche häufig Blättchen entnommen wurden sowie Blättchen, die über Nacht nicht im Kühlschrank aufbewahrt wurden, entsorgt werden. Zumindest sollten diese Blättchen vor einer weiteren Verwendung auf akzeptable Leistungsfähigkeit hin getestet werden.
- Falls die Blättchen mit den empfohlenen Kontrollorganismen falsche Hemmzonen ergeben, muss das gesamte Verfahren überprüft werden. Die Ursache einer falschen Hemmzonengröße kann auf den Blättchen, der Inokulation, der Vorbereitung oder Tiefe (ungefähr 4 mm) des Mediums und anderen Faktoren beruhen.

Das angegebene Verfallsdatum gilt nur für in ungeöffneten Packungen aufbewahrte Blättchen und bei Beachtung der entsprechenden Lagervorschriften.

**PROBEN** – Direkte Proben sollte bei diesem Test nicht verwendet werden. Der Test muss mit isolierten Kulturen verwendet werden. Siehe die Anleitung zur Zubereitung des Inokulums. Falls möglich, sollten die Kulturen aus Proben angelegt werden, die den Patienten vor Beginn einer Antimykotikatherapie entnommen wurde.

## VERFAHREN

**Mitgeliefertes Arbeitsmaterial:** **BD BBL Sensi-Disc**-Testblättchen zur Empfindlichkeitsprüfung je nach Kennzeichnung.

**Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Material:** Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien, Organismenstämme zur Qualitätskontrolle und erforderliche Laborgeräte zur Durchführung einer Blättchen-Empfindlichkeitsprüfung mit dem Diffusionsstest nach dem Standardverfahren. Einen 0,5-McFarland-Trübungsstandard herstellen, indem 0,5 mL 0,048 M BaCl<sub>2</sub> [1,175 % (Gew./Vol.) BaCl<sub>2</sub> • 2H<sub>2</sub>O] zu 99,5 mL 0,18 M [0,36N] H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> [1 % (Vol./Vol.)] zugegeben werden. Den Trübungsstandard mit Hilfe eines Spektralphotometers mit Vergleichsküvette bei einer Schichtdicke von 1 cm überprüfen; die Extinktion bei 625 nm muss zwischen 0,08 und 0,13 liegen.

**Anleitungen, einschließlich Qualitätssicherung durch den Anwender:**<sup>8</sup>

- Zubereitung des Inokulums mit Test- und Kontrollkulturen.
  - Fünf klare Kolonien mit einem Durchmesser von ca. 1 mm aus einer 24 Stunden alten Kultur der *Candida*-Spezies auswählen, die auf Blut-Agar oder Sabouraud-Dextrose-Agar angezüchtet wurde. Mit Inokulationsnadel oder -öse in 5 mL steriles 0,145 M NaCl (8,5 g/L NaCl; 0,85 %ige Kochsalzlösung) überführen. 15 s im Vortexmischer mischen.
  - Falls nötig verdünnen oder weitere Kolonien hinzufügen, bis die Trübung dem 0,5-McFarland-Trübungsstandard entspricht. Alternativ das Inokulum photometrisch standardisieren.<sup>8</sup>
- Inokulation.
  - Innerhalb von 15 min einen sterilen Wattetupfer in das korrekt eingestellte Inokulum tauchen und gegen die obere Innenwand des Röhrchens mehrmals fest hin und her drehen, um überschüssige Flüssigkeit auszudrücken.
  - Die gesamte Agaroberfläche der Mueller-Hinton-Agarplatte mit GMB dreimal ausstreichen und dabei zwischen den einzelnen Ausstreichungen die Platte jeweils um 60° rotieren, um eine gleichmäßige Inokulierung zu erreichen.
  - Der Deckel kann 3 bis 5 min, aber nicht länger als 15 min geöffnet bleiben, damit eventuelle oberflächliche Feuchtigkeit vor dem Aufbringen der mit Arzneimittel imprägnierten Blättchen absorbiert wird.
- Geeignete Blättchen auswählen (siehe Empfehlungen in CLSI M44, Tabellen 1 und 2).
- Die Blättchen mit einem **BD BBL** Dispenser unter Beachtung aseptischer Vorsichtsmaßnahmen auflegen. Dabei die Blättchen so absetzen, dass deren Zentren mindestens 24 mm auseinander liegen. Würden die Blättchen nicht mit Dispensern mit automatischer Andruckvorrichtung auf dem Agar platziert, Blättchen für guten Kontakt mit der Plattenoberfläche mit einer sterilen Nadel oder Pinzette andrücken.
- Die Platten mit dem Agar nach oben innerhalb von 15 min in einen Inkubator von 35 ± 2 °C bringen.
- Die Agarplatten nach 20 bis 24 h Inkubation untersuchen. Die Durchmesser der Hemmzonen, die bei visueller Überprüfung eine vollständige Hemmung aufweisen, werden gemessen. Die Zonendurchmesser werden auf den nächsten Millimeter gerundet. Weitere Einzelheiten zur Messung der Hemmzonen sind CLSI M44 zu entnehmen.<sup>8</sup> Wenn nur einzeln stehende Kolonien wachsen, war das Inokulum zu schwach und der Test sollte wiederholt werden. Hemmzonen um Blättchen mit verschiedenen Arzneimitteln können nicht zum Vergleich der Arzneimittellaktivität herangezogen werden. Nur nach 48 h ablesen, wenn nach 24 h Inkubationszeit kein ausreichendes Wachstum zu beobachten ist.
- Kontrolltests mit empfohlenen Kulturen sollten an jedem Tag, an dem Empfindlichkeitsprüfungen durchgeführt werden, mitlaufen. Falls eine laut CLSI-Standard zufriedenstellende Testleistung dokumentiert werden kann, können die Kontrolltests wöchentlich durchgeführt werden.<sup>8</sup>

**ERGEBNISSE**<sup>9</sup> – **HINWEIS:** Die empfohlenen Interpretationskriterien basieren auf gebräuchlichen Dosierungen und Verabreichungswegen (in den USA).

Die Kategorie „Empfindlich“ (S, susceptible) bedeutet, dass Isolate von den normalerweise erreichbaren Konzentrationen getesteter Antimykotika gehemmt werden, wenn die empfohlene Dosierung für den Entzündungsbereich verwendet wird. Die Kategorie „Intermediär“ (I) bedeutet, dass eine durch das Isolat verursachte Entzündung an den Körperstellen angemessen behandelt werden kann, an denen die Medikamente physiologisch konzentriert sind, oder wenn eine hohe Dosierung des Medikaments verabreicht wird. Die Kategorie „Resistent“ (R) bedeutet, dass die Isolate nicht von den normalerweise erreichbaren Konzentrationen des Wirkstoffs in normaler Dosierung gehemmt werden, und dass die klinische Wirkung gegen das Isolat in Behandlungsstudien nicht zuverlässig nachgewiesen werden konnte.

## VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

- Die Einteilung in resistent (R), intermediär (I) und empfindlich (S) unterscheidet sich nur durch einen Millimeter, was innerhalb des normalen Laborfehlerbereichs liegt. Bei einigen Kulturen erhält man Hemmzonen im Grenzbereich, die von Tag zu Tag oder Labor zu Labor anders ausfallen können. Allerdings sind solche Kulturen relativ selten.
- Unter Umständen werden derzeitige andere als die in der Tabelle aufgeführten antimykotischen Substanzen verwendet. Die Ergebnisse der Empfindlichkeitsprüfung solcher Substanzen müssen auf der Grundlage der Anwesenheit oder des Fehlens einer definierten Hemmzone interpretiert werden. Außerdem müssen diese Ergebnisse solange als qualitativ angesehen werden, bis eine Hemmzoneninterpretation erarbeitet wurde. Alle Hemmzonen Durchmesser sollten schriftlich festgehalten werden.

## LIEFERBARE PRODURRE

### Best.-Nr. Descrizione

232201	<b>BD BBL Sensi-Disc</b> Fluconazol, 25 µg
232202	<b>BD BBL Sensi-Disc</b> Voriconazol, 1 µg

**REFERENZE:** S. "References" im englischen Text.

BD Diagnostics Technischer Kundendienst: setzen Sie sich mit Ihrer zuständigen BD-Vertretung.

Interpretationstabelle für Zonendurchmesser†									
			Interpretationsstandards für Zonendurchmesser (mm)			Durchmessergrenzen für Kontrollzonen (mm)			
Antimykotikum	Blättchen-Code	Blättchen-Konzentration	R	I	S	<i>C. albicans</i> ATCC 90028	<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	<i>C. tropicalis</i> ATCC 750	<i>C. krusei</i> ATCC 6258
Fluconazol <sup>a</sup>	FCA-25	25 µg	≤14	15 – 18	≥19	28 – 39	22 – 33	26 – 37	– <sup>b</sup>
Voriconazol	VOR-1	1 µg	≤13	14 – 16	≥17	31 – 42	28 – 37	– <sup>b</sup>	16 – 25

† Interpretationskriterien und Empfehlungen zur Qualitätskontrolle laut FDA-genehmigter Wirkstoffbeschriftung. Interpretationskriterien und Qualitätskontrolle teilweise adaptiert nach dem CLSI-Dokument M44-A: Disk Diffusion Tables, Performance Standards for Susceptibility Testing of Yeasts (mit freundlicher Genehmigung). Das vollständige Normenwerk ist erhältlich vom Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA.

a Bei Isolaten von *C. krusei* wird angenommen, dass sie intrinsisch resistent gegen Fluconazol sind. Ihre MHK-Werte sollten nicht mithilfe dieser Skala interpretiert werden.

b Für diese Kombination von Stamm und antimikrobieller Substanz wurde kein Qualitätskontrollbereich festgelegt, da es bei Studien zur Qualitätskontrolle zu extremen Abweichungen von Labor zu Labor kam.

# **BD BBL Sensi-Disc Antimicrobial Susceptibility Test Discs** (Dischi per antibiogramma)

Italiano

**USO PREVISTO** - Questi dischi sono usati per test semi-quantitativi *in vitro* di sensibilità di agenti patogeni fungini mediante disco-diffusione in agar.

**SOMMARIO E SPIEGAZIONE** – I metodi di diffusione in agar, che impiegano dischi di carta da filtro asciutti, impregnati con concentrazioni specifiche di agenti antibiotici, furono sviluppati negli anni Quaranta. Al fine di eliminare o minimizzare la componente di variabilità in questi test, Bauer et al. svilupparono una procedura standardizzata che utilizzava l'agar Mueller Hinton come terreno di coltura.<sup>1,2</sup>

Successivamente, varie agenzie di regolamentazione e organizzazioni preposte alla definizione di norme pubblicarono procedure di riferimento standardizzate basate sul metodo Bauer-Kirby. Le procedure pubblicate dalla U.S. Food and Drug Administration (FDA)<sup>3</sup> e dall'Organizzazione Mondiale per la Sanità (OMS) furono tra le prime e più largamente accettate.<sup>4,5</sup> Le procedure vennero adottate come consensus standard dal Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) e sono oggetto di aggiornamenti periodici.<sup>6,7</sup>

Venne elaborata una metodica di disco-diffusione per testare *Candida* spp. e nel 2004 venne pubblicata la linea guida approvata CLSI M44-A, *Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts*.<sup>8</sup> La metodica di disco-diffusione fornisce spesso risultati qualitativi con 24 ore di anticipo rispetto alla diluizione in brodo; di conseguenza, il test di sensibilità agli antifungini risulta una procedura più accessibile e pratica per alcuni laboratori clinici e rappresenta un'alternativa a costi inferiori. **Per le raccomandazioni vigenti, consultare la documentazione CLSI più recente in merito.**

**PRINCIPI DELLA PROCEDURA** – I dischi contenenti agenti antifungini vengono collocati sulla superficie di piastre di agar Mueller Hinton supplementato con glucosio al 2% e colorante blu di metilene allo 0,5 µg/mL (GMB), inoculate con colture pure di isolati clinici. Dopo l'incubazione, le piastre vengono esaminate e le zone di inibizione intorno ai dischi misurate e comparate con range dimensionali di riferimento predefiniti per ciascun antifungino al fine di determinare gli agenti più adatti alla terapia antibiotica.<sup>8</sup>

**REAGENTI** – I **BD BBL Sensi-Disc** sono dischi del diametro di 6 mm, preparati impregnando carta assorbente di alta qualità con quantitativi accuratamente determinati di antibiotici o di altri agenti chemioterapici. I dischi sono contrassegnati in modo ben visibile su entrambi i lati da lettere e numeri indicanti l'agente e la rispettiva concentrazione (vedere la tabella che riporta le concentrazioni di ingredienti reattivi). L'antibiotico contenuto nei dischi viene testato con le metodiche stabilite dall'FDA o procedure simili o comparabili a quelle pubblicate nel *Federal Register* statunitense.

Gli agenti **BD BBL Sensi-Disc** vengono forniti in cartucce da 50 dischi ciascuna. L'ultimo disco di ogni cartuccia è contrassegnato con una "X" e contiene il farmaco indicato dal codice. Le cartucce vengono utilizzate nei dispensatori **BD BBL Sensi-Disc**, disponibili in vari modelli: dispensatore a disco singolo, dispensatore da 8 posti per piastre Petri da 100 mm, dispensatore auto-applicatore da 6 od 8 posti per piastre da 100 mm e dispensatore auto-applicatore da 12 posti per piastre da 150 mm.

**Avvertenze e precauzioni:** Per uso diagnostico *in vitro*.

Seguire le istruzioni per l'uso; le prestazioni dei dischi non dipendono solo dalla loro potenza specifica, ma anche dall'uso di inoculo e colture di controllo appropriati, da piastre pre-testate funzionali, da una temperatura di conservazione idonea e da altri fattori.

Durante tutte le procedure, attenersi alle tecniche asettiche e alle precauzioni stabilite contro i rischi microbiologici. Dopo l'uso, sterilizzare le colture, i contenitori e i materiali contaminati.

### Modalità di conservazione:

- Al ricevimento, conservare i dischi a una temperatura compresa tra -20 e +8 °C.
- Prima dell'apertura, attendere che i contenitori raggiungano la temperatura ambiente. Una volta completata l'applicazione dei dischi, rimettere in frigorifero quelli non utilizzati. Dopo aver rimosso una cartuccia di dischi dalla confezione sigillata, posizionarla in un contenitore essiccato accuratamente sigillato.
- Usare prima i dischi più vecchi.
- Gettare i dischi scaduti. Gettare anche le cartucce i cui dischi siano stati rimossi frequentemente nell'arco di una settimana e i dischi non conservati in frigorifero nel laboratorio durante la notte. In alternativa, testare i dischi per verificare che assicurino prestazioni accettabili prima di continuare ad usarli.
- Se i dischi sviluppano zone di inibizione non corrette con i microrganismi di controllo raccomandati, verificare l'intera procedura; le errate dimensioni della zona possono essere dovute al disco, all'inoculo, alla preparazione o allo spessore (ca. 4 mm) del terreno o ad altri fattori.

La data di scadenza vale solo per i dischi conservati in contenitori integri, conservati secondo le istruzioni.

**CAMPIONI** – In questo test, non utilizzare campioni diretti. Usare il test con colture isolate. Vedere le Istruzioni che illustrano la procedura di preparazione dell'inoculo. Se possibile, preparare le colture da campioni prelevati da pazienti prima dell'inizio della terapia antifungina.

### PROCEDURA

**Materiali forniti:** Dischi **BD BBL Sensi-Disc** per test di sensibilità, come da etichetta.

**Materiali necessari ma non forniti:** Terreni di coltura ausiliari, reagenti, microrganismi per controllo di qualità e apparecchiature di laboratorio necessarie per eseguire il test di sensibilità mediante disco-diffusione con la procedura standardizzata. Preparare uno standard di torbidità McFarland 0,5 aggiungendo 0,5 mL di 0,048 BaCl<sub>2</sub> M [1,175% (peso/vol) BaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O] a 99,5 mL di 0,18 M [0,36N] H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> [1% (vol/vol)]. Per la verifica usare uno spettrofotometro con percorso ottico di 1 cm e cuvetta corrispondente; l'assorbanza a 625 nm deve essere pari a 0,08 – 0,13.

### Istruzioni, inclusi i controlli da parte dell'utente:<sup>8</sup>

- Preparazione dell'inoculo con colture per il test e il controllo
  - Selezionare cinque colonie distinte del diametro di circa 1 mm da una coltura di 24 ore di *Candida* spp., cresciuta su agar sangue o agar destrosio Sabouraud. Trasferire mediante ansa o ago da inoculo in 5 mL di soluzione fisiologica sterile 0,145 NaCl M (8,5 g/L NaCl; soluzione fisiologica allo 0,85%). Vortexare per 15 s.
  - Diluire o aggiungere altre colonie, se necessario, per ottenere una torbidità equivalente allo standard McFarland 0,5. In alternativa, standardizzare l'inoculo fotometricamente.<sup>8</sup>
- Inoculo
  - Entro 15 min, immergere un tampone di cotone sterile nell'inoculo correttamente diluito ed eliminare il liquido in eccesso facendo ruotare il tampone e premendolo parecchie volte contro la parte superiore della parete interna della provetta.
  - Seminare l'intera superficie di una piastra agar Mueller Hinton + GMB per tre volte, girando dopo ogni striscio la piastra di 60° per ottenere un inoculo uniforme.
  - Si può lasciare il coperchio socchiuso per 3 – 5 min, ma non più di 15 min, per permettere l'assorbimento di eventuale umidità dalla superficie, prima di applicare i dischi impregnati di antibiotico.
- Selezionare i dischi appropriati (come raccomandato nella CLSI M44, Tabelle 1 e 2).
- Applicare i dischi con l'ausilio di un dispensatore **BD BBL**, adottando tecniche asettiche. Depositare i dischi in modo che la distanza tra i rispettivi centri sia di almeno 24 mm. Se i dischi sono stati depositati sull'agar senza dispensatore auto-applicatore, premere su di essi con un ago o pinze sterili in modo da porli a contatto con la superficie della piastra.
- Entro 15 min porre in incubatore a 35 ± 2 °C le piastre, con il lato dell'agar rivolto verso l'alto.
- Esaminare le piastre dopo 20 – 24 h di incubazione. I diametri delle zone di inibizione completa vengono misurati mediante controllo visivo macroscopico. La misurazione delle zone viene arrotondata al millimetro. Per ulteriori dettagli sulla misurazione delle zone di inibizione, consultare la CLSI M44.<sup>8</sup> La sola crescita di colonie isolate indica che l'inoculo è troppo leggero; in tal caso, il test deve essere ripetuto. Le zone intorno ai dischi contenenti antibiotici differenti non sono rapportabili ai fini della comparazione dell'attività degli antibiotici in questione. Eseguire la lettura dopo 48 h soltanto nel caso in cui dopo 24 h di incubazione si osservi una crescita insufficiente.
- Includere test di controllo usando le colture raccomandate ogni giorno in cui si eseguono test di sensibilità, oppure una volta alla settimana nel caso in cui si possano documentare prestazioni soddisfacenti in conformità alle norme CLSI.<sup>8</sup>

**RISULTATI**<sup>8</sup>– NOTA: I criteri di interpretazione raccomandati si basano sui regimi di dosaggio e le vie di somministrazione prevalenti negli Stati Uniti.

La categoria Sensibile (S) implica che gli isolati sono inibiti dalle concentrazioni normalmente ottenibili di agente antifungino testato allorché per il sito di infezione viene usato il dosaggio raccomandato. La categoria Intermedio (I) implica che un'infezione dovuta all'isolato può essere trattata in modo appropriato nei siti corporei in cui gli antibiotici sono fisiologicamente concentrati o laddove si utilizza un dosaggio elevato di antibiotico. La categoria Resistente (R) implica che gli isolati non sono inibiti dalle concentrazioni normalmente ottenibili dell'agente con piano di dosaggio normale e che l'efficacia clinica dell'agente contro l'isolato non è stata dimostrata in modo affidabile negli studi terapeutici.

### LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

- Le classificazioni di Resistente (R), Intermedio (I) e Sensibile (S) variano solamente di un millimetro, che rientra nel normale margine di errore di laboratorio. Alcune colture possono dare una zona borderline che varia da un giorno all'altro o da un laboratorio all'altro; tali colture sono relativamente rare.
- È possibile usare agenti antifungini diversi da quelli elencati nella tabella. I test di sensibilità con tali agenti devono essere interpretati in base alla presenza o assenza di una zona definita di inibizione e considerati soltanto come qualitativi finché non siano state stabilite le zone di interpretazione. Tutti i diametri delle zone devono essere registrati.

### DISPONIBILITÀ

#### N. di cat. Descrizione

232201	<b>BD BBL Sensi-Disc</b> Fluconazole, 25 µg
232202	<b>BD BBL Sensi-Disc</b> Voriconazole, 1 µg

**BIBLIOGRAFIA:** Vedere "References" nel testo inglese.

Assistenza e supporto tecnico BD Diagnostics: rivolgersi al rappresentante locale BD.



Tabla de interpretación de los diámetros de zona <sup>†</sup>									
			Normas de interpretación de los diámetros de zona (mm)			Límites de los diámetros de la zona de control (mm)			
Agente antifúngico	Código disco	Potencia disco	R	I	S	<i>C. albicans</i> ATCC 90028	<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	<i>C. tropicalis</i> ATCC 750	<i>C. krusei</i> ATCC 6258
Fluconazol <sup>a</sup>	FCA-25	25 µg	≤14	15-18	≥19	28-39	22-33	26 – 37	– <sup>b</sup>
Voriconazol	VOR-1	1 µg	≤13	14-16	≥17	31-42	28-37	– <sup>b</sup>	16-25

<sup>†</sup> Criterios de interpretación y recomendaciones para el control de calidad según el etiquetado de los fármacos aprobados por la FDA. Adaptación parcial de los criterios de interpretación y del control de calidad del documento CLSI M44-A: Disk Diffusion Tables, Performance Standards for Susceptibility Testing of Yeasts, previa autorización. El documento completo puede obtenerse en Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA.

<sup>a</sup> Los aislados de *C. krusei* son intrínsecamente resistentes al fluconazol y la MIC no debe interpretarse usando esta escala.

<sup>b</sup> Para esta combinación de cepa/antibiótico, no se ha establecido un rango de control de calidad debido a la notable variación inter-laboratorio observada durante los estudios iniciales de control de calidad.

# BD BBL Sensi-Disc Antimicrobial Susceptibility Test Discs (Discos para el análisis de sensibilidad antimicrobiana)

Español

**USO PREVISTO:** Estos discos se utilizan para pruebas semicuantitativas de sensibilidad *in vitro* de patógenos fúngicos, por medio del procedimiento de prueba de difusión en agar.

**RESUMEN Y EXPLICACIÓN:** En la década de 1940 se desarrollaron métodos de difusión en agar utilizando discos de papel de filtro seco impregnados de concentraciones específicas de agentes antimicrobianos. Con el fin de eliminar o minimizar la variabilidad de este análisis, Bauer y cols. desarrollaron un procedimiento normalizado para el cual se eligió el agar de Mueller Hinton como medio para el análisis<sup>1,2</sup>.

Varios organismos reguladores y normativos publicaron posteriormente procedimientos de referencia normalizados, basados en el método Bauer-Kirby. Entre los primeros procedimientos normalizados con mayor aceptación se incluyen los publicados por la Food and Drug Administration (FDA)<sup>3</sup> y la Organización Mundial de la Salud (OMS).<sup>4,5</sup> Los procedimientos fueron adoptados por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) como norma de aceptación general y se actualizan periódicamente.<sup>6,7</sup>

Se desarrolló un método de difusión por disco para analizar las especies *Candida* y en 2004 se dieron a conocer las recomendaciones aprobadas del CLSI en el documento M44-A, "Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts".<sup>8</sup> El método de difusión por disco suele proporcionar resultados cualitativos 24 horas antes que el de dilución en caldo, permitiendo que las pruebas de sensibilidad antifúngicas estén disponibles más fácilmente para algunos laboratorios clínicos y proporcionando una alternativa de costes reducidos. Consulte en los documentos más recientes del CLSI las recomendaciones vigentes.

**PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO:** Los discos, que contienen agentes antifúngicos, se colocan en la superficie de las placas de agar de Mueller Hinton enriquecido con un 2% de glucosa y 0,5 µg/mL de colorante azul de metileno (GMB) que han sido inoculadas con cultivos puros de aislados clínicos. Después de la incubación, se examinan las placas y se miden y comparan las zonas de inhibición que rodean los discos con los límites de tamaño de zona establecidos para agentes antifúngicos individuales a fin de determinar el agente o agentes más convenientes en la terapia antimicrobiana.<sup>8</sup>

**REACTIVOS:** Los discos **BD BBL Sensi-Disc** miden 6 mm y se preparan impregnando papel absorbente de alta calidad con cantidades exactas de antibióticos o de otros agentes quimioterapéuticos. Los discos están marcados claramente en ambos lados con letras y números que indican el agente y el contenido del fármaco (véase el gráfico que contiene las concentraciones de los componentes reactivos). El contenido del fármaco en los discos se determina mediante los métodos establecidos por la FDA o por métodos similares o comparables a los publicados en el *Federal Register* de Estados Unidos.

Los agentes **BD BBL Sensi-Disc** se suministran en cartuchos que contienen 50 discos cada uno. El último disco de cada cartucho está marcado con una "X" y contiene el fármaco según su código. Los cartuchos deben utilizarse en los dispensadores **BD BBL Sensi-Disc**, que incluyen un dispensador de un solo disco, un dispensador de 8 posiciones para placas de Petri de 100 mm, dispensadores de autoapisonamiento de 6 y 8 posiciones para placas de 100 mm y un dispensador de autoapisonamiento de 12 posiciones para placas de 150 mm.

**Advertencias y precauciones:** Para uso diagnóstico *in vitro*.

Siga las instrucciones de uso; el rendimiento del disco no sólo depende de su eficacia, sino también del uso de inóculos y cultivos de control adecuados, de placas funcionales previamente analizadas y de una temperatura de almacenamiento apropiada, así como de otros factores.

Emplee una técnica aséptica y siga las precauciones habituales contra riesgos microbiológicos durante todos los procedimientos. Esterilice los cultivos, recipientes y otros materiales contaminados después de su uso.

**Instrucciones de almacenamiento:**

- Al recibirlo, los discos se deben guardar a una temperatura entre -20 y +8 °C.
- Deje que los envases alcancen la temperatura ambiente antes de abrirlos. Vuelva a colocar los discos que no hayan sido utilizados en el frigorífico cuando se haya terminado la aplicación de los mismos. Una vez que se ha sacado un cartucho de discos del envase cerrado herméticamente, debe colocarse en un recipiente desecado, cerrado herméticamente.
- Utilice primero los discos cuya fecha de caducidad sea más próxima.
- Deseche los discos que ya han caducado. También se deben desechar los cartuchos de los que se han sacado discos con frecuencia durante una semana y los discos que se hayan dejado en el laboratorio fuera del frigorífico toda la noche; de no ser así, se debe evaluar si su rendimiento es aceptable antes de volver a usarlos.
- Si los discos forman zonas incorrectas con los microorganismos de control recomendados, deberá evaluarse todo el procedimiento; el tamaño defectuoso de la zona puede deberse al disco, la inoculación, la preparación o la profundidad del medio (alrededor de 4 mm), o a otros factores.

La fecha de caducidad sólo se aplica a los discos almacenados en el envase intacto de la forma indicada.

**MUESTRAS:** No deben utilizarse muestras directas en esta prueba. La prueba debe utilizarse con cultivos aislados. Consulte las instrucciones, que incluyen información sobre la preparación del inóculo. En la medida de lo posible, los cultivos deben provenir de muestras obtenidas de pacientes antes de que inicien una terapia antifúngica.

## PROCEDIMIENTO

**Material suministrado:** Discos **BD BBL Sensi-Disc** para el análisis de las sensibilidades indicadas en las etiquetas.

**Materiales necesarios pero no suministrados:** Medios de cultivo auxiliares, reactivos, organismos de control de calidad y equipos de laboratorio necesarios para realizar la prueba de sensibilidad de difusión en disco según el procedimiento normalizado. Prepare una norma de turbidez McFarland de 0,5, añadiendo 0,5 mL de 0,048 M BaCl<sub>2</sub> [1,175% (peso/vol) BaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O] a 99,5 mL de 0,18 M [0,36 N] H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> [1% (vol/vol)]. Verifique utilizando un espectrofotómetro con un haz luminoso de 1 cm y la cubeta correspondiente; la absorción a 625 nm debe ser de 0,08 – 0,13.

**Instrucciones y controles por parte del usuario:**<sup>8</sup>

- Preparación del inóculo con cultivos de control y de prueba.
  - Seleccione cinco colonias definidas de aproximadamente 1 mm de diámetro en un cultivo de 24 horas de especies *Candida* cultivadas en agar sangre o en agar dextrosa de Sabouraud. Trasládelas con una aguja de inoculación o asa de siembra a 5 mL de 0,145 M NaCl (8,5g/L de NaCl; solución salina al 0,85%). Agite en vórtex durante 15 s.
  - Diluya o añada más colonias, si es preciso, para obtener una turbidez equivalente a la norma de turbidez McFarland de 0,5. Otra opción es normalizar el inóculo fotométricamente.<sup>8</sup>
- Inoculación
  - En el plazo de 15 min. sumerja una torunda de algodón estéril en el inóculo ajustado correctamente y gírela con firmeza varias veces contra la parte superior de la pared interna del tubo para exprimir el exceso de líquido.
  - Siembre tres veces toda la superficie del agar de una placa de agar Mueller Hinton + GMB, girándola 60 grados cada vez para obtener una inoculación uniforme.
  - La tapa puede dejarse entreabierta entre 3 y 5 min., pero no más de 15 min., para permitir que se absorba toda la humedad de la superficie antes de que se apliquen los discos impregnados con el fármaco.
- Seleccione los discos apropiados (por ejemplo, los recomendados en las tablas 1 y 2 de CLSI M44).
- Aplique los discos mediante un dispensador **BD BBL**, empleando condiciones asépticas. Deposite los discos de modo que los centros queden a no menos de 24 mm de distancia. Si los discos se han colocado en el agar con dispensadores que no sean de autoapisonamiento, presiónelos contra la superficie con una aguja o pinza estériles.
- En un plazo de 15 min., coloque las placas con el agar hacia arriba en una incubadora a 35 ± 2 °C.
- Examine las placas cuando hayan transcurrido entre 20 y 24 h de incubación. Mida el diámetro de las zonas que muestren inhibición total, determinadas por la inspección visual macroscópica. Mida las zonas hasta el milímetro más cercano. Para obtener más detalles sobre la medición de zonas de inhibición, consulte el documento M44 del CLSI.<sup>8</sup> Si sólo crecen colonias aisladas se debe a que el inóculo está demasiado diluido y debe repetirse la prueba. Las zonas que rodean los discos que contienen diferentes fármacos no son comparables para cotectar la actividad de los fármacos. Realice la lectura a las 48 h únicamente cuando después de 24 h de incubación se observe un crecimiento insuficiente.
- Se deben incluir pruebas de control que utilicen cultivos recomendados todos los días que se realicen las pruebas de sensibilidad o bien semanalmente, si se puede documentar un rendimiento satisfactorio conforme al criterio del CLSI.<sup>8</sup>

**RESULTADOS:**<sup>8</sup>—NOTA: Los criterios de interpretación recomendados se basan en las pautas posológicas y vías de administración habituales en EE.UU.

La categoría de "sensible" (S) implica que los aislados son inhibidos por las concentraciones normalmente alcanzables de agentes antifúngicos, analizados cuando se utiliza la dosis recomendada para el lugar de la infección. La categoría "intermedia" (I) implica que una infección debida al aislado debe tratarse adecuadamente en las zonas del organismo en las que los fármacos se encuentran concentrados fisiológicamente o cuando puede usarse una dosis más alta de fármaco. La categoría "resistente" (R) implica que los aislados no son inhibidos por las concentraciones normalmente alcanzables del agente con prescripciones de dosis normal y que la eficacia clínica del agente contra el aislado no se ha demostrado con fiabilidad en los estudios del tratamiento.

## LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Las clasificaciones de resistente (R), intermedio (I) y sensible (S) varían sólo por un milímetro, lo cual está dentro del error normal de laboratorio. Algunos cultivos pueden producir una zona límite que varía de un día para otro o de laboratorio en laboratorio; estos cultivos son relativamente poco comunes.
- Pueden estar en uso otros agentes antifúngicos no incluidos en el gráfico. Las pruebas de sensibilidad que emplean estos agentes deben interpretarse basándose en la presencia o ausencia de una zona de inhibición evidente y hasta que no se establecen zonas interpretativas, sólo deben considerarse como cualitativas. Deben registrarse todos los diámetros de zona.

## DISPONIBILIDAD

Nº de cat.	Descripción
232201	<b>BD BBL Sensi-Disc</b> Fluconazole, 25 µg
232202	<b>BD BBL Sensi-Disc</b> Voriconazole, 1 µg

**REFERENCIAS:** Ver "Referencias" en el texto en inglés.

Servicio técnico de BD Diagnostics: póngase en contacto con el representante local de BD.

**Gráfico de interpretación del diámetro de la zona†**

			Normas de interpretación de diámetros de zona (mm)			Límites de control de diámetros de zona (mm)			
Agente antifúngico	Código de disco	Potencia del disco	R	I	S	<i>C. albicans</i> ATCC 90028	<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	<i>C. tropicalis</i> ATCC 750	<i>C. krusei</i> ATCC 6258
Fluconazol <sup>a</sup>	FCA-25	25 µg	≤14	15 – 18	≥19	28 – 39	22 – 33	26 – 37	– <sup>b</sup>
Voriconazol	VOR-1	1 µg	≤13	14 – 16	≥17	31 – 42	28 – 37	– <sup>b</sup>	16 – 25

† Criterios de interpretación y recomendaciones para el control de calidad del etiquetado de fármacos aprobado por la FDA. Criterios de interpretación y control de calidad adaptados en parte del documento M44-A del CLSI: tablas de difusión en disco y estándares de rendimiento para las pruebas de sensibilidad de levaduras, con permiso. El estándar completo puede obtenerse del Clinical and Laboratory Standards Institute: 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898, (EE.UU).

a Se presupone que los aislados de *C. krusei* son intrínsecamente resistentes al fluconazol y sus CMI no deben interpretarse utilizando esta escala.

b No se ha definido un intervalo de control de calidad para esta combinación de cepa y agente antimicrobiano, debido a la amplia variación entre laboratorios durante los estudios iniciales de control de calidad.



Manufacturer / Производител / Výrobce / Fabrikant / Hersteller / Κατασκευαστής / Fabricante / Tootja / Fabricant / Proizvođač / Gyártó / Fabbricante / Аткарушы / Gamintojas / Ražotājs / Tilvirker / Producent / Producător / Производитель / Výrobca / Proizvođač / Tillverkare / Üretici / Виробник



Use by / Используйте до / Spotřebujte do / Brug før / Verwendbar bis / Χρήση έως / Usar antes de / Kasutada enne / Date de réemption / Upotrijebiti do / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Дейін пайдалануға / Naudokite iki / Izljetot Ildz / Houdbaar tot / Brukes for / Stosować do / Prazo de validade / A se utiliza până la / Использовать до / Použít do / Upotrebiti do / Använd före / Son kulanma tarihi / Використати до ліне

YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month)  
 ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = края на месеца)  
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)  
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = slutning af måned)  
 JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende)  
 EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα)  
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fin del mes)  
 AAAA-KK-PP / AAAA-KK (KK = kuu lõpp)  
 AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois)  
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj mjeseca)  
 ÉÉÉÉ-HH-NN / ÉÉÉÉ-HH (HH = hónap utolsó napja)  
 AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese)  
 ЖЖЖЖ-АА-КК / ЖЖЖЖ-АА / (АА = айдың соңы)  
 MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mēnesio rabaiga)  
 GGGG-MM-DD/GGGG-MM (MM = mēneša beigas)  
 JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand)  
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = sluttan av måneden)  
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)  
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês)  
 AAAA-LL-ZZ / AAAA-LL (LL = sfârșitul lunii)  
 ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = конец месяца)  
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec mesiacu)  
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj meseca)  
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = slutet av månaden)  
 YYYY-AA-GG / YYYY-AA (AA = ayın sonu)  
 PPPP-MM-ДД / PPPP-MM (ММ = кінець місяця)



Catalog number / Каталоген номер / Katalogové číslo / Katalognummer / Αριθμός καταλόγου / Número de catálogo / Katalooginumbr / Numéro catalogue / Kataloški broj / Katalógusszám / Numero di catalogo / Каталог номері / Katalogo numeris / Kataloga numurs / Catalogus nummer / Numer katalogowy / Număr de catalog / Номер по каталогу / Katalogové číslo / Kataloški broj / Katalog numarası / Номер за каталогом



Authorized Representative in the European Community / Оторизиран представител в Европейската общност / Autorizovaný zástupce pro Evropském společenství / Autoriserer repræsentant i De Europæiske Fællesskaber / Autorisierter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Volitatud esindaja Euroopa Nõukogus / Représentant autorisé pour la Communauté européenne / Autorizuirani predstavnik u Evropskoj uniji / Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségekben / Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea / Европа қауымдастығындағы уәкілетті өкіл / Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / Pilnvarotais pārstāvis Eiropas Kopienā / Bevoegde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap / Autoriseret representant i EU / Autoryzowane przedstawicielstwo we Wspólnocie Europejskiej / Representante autorizado na Comunidade Europeia / Reprezentantul autorizat pentru Comunitatea Europeană / Уполномоченный представитель в Европейском сообществе / Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve / Autorizovano predstavništvo u Evropskoj uniji / Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen / Avrupa Topluluğu Yetkili Temsilcisi / Уповноважений представник у країнах ЄС



In Vitro Diagnostic Medical Device / Медицински уред за диагностика ин витро / Lékařské zařízení určené pro diagnostiku in vitro / In vitro diagnostisk medicinsk anordning / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / In vitro диагностикалык истракы сүскели / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / In vitro diagnostika meditsiinaraparatuur / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medicinska pomagala za In Vitro Dijagnostiku / In vitro diagnostikai orvosi eszköz / Dispositivo medicale per diagnostica in vitro / Жасанды жагдайда жүргізетін медициналык диагностика аспабы / In vitro diagnostikos prietaisai / Medicinas ierīces, ko lieto in vitro diagnostikā / Medisch hulpmiddel voor in-vitro diagnostiek / In vitro diagnostisk medisinsk utstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Dispositiv medical pentru diagnostic in vitro / Медицинский прибор для диагностики in vitro / Medicinska rotēcka na diagnostiku in vitro / Medicinski uređaj za in vitro dijagnostiku / Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik / In Vitro Dijagnostik Tibbi Cihaz / Медицинский прибор для диагностики in vitro



Temperature limitation / Температурни ограничения / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning / Temperaturbegrenzung / Περιορισμοί θερμοκρασίας / Limitación de temperatura / Temperaturriirang / Limites de température / Dozvoljena temperatura / Hőmérsékleti határ / Limiti di temperatura / Температураны шектеу / Laikymo temperatūra / Temperatūras ierobežojumi / Temperaturilimiet / Temperaturbegrensning / Ograniczenie temperatury / Limites de temperatura / Limite de temperatură / Ограничение температуры / Ograničenje toploty / Ograničenje temperature / Temperaturgräns / Sıcaklık sınırlaması / Обмеження температури



Batch Code (Lot) / Код на партидата / Kód (číslo) šarže / Batch-kode (lot) / Batch-Code (Charge) / Κωδικός παρτίδας (παρτίδα) / Código de lote (lote) / Partii kood / Numéro de lot / Lot (kod) / Tétel száma (Lot) / Codice batch (lotto) / Топтама коды / Partijos numeris (LOT) / Partijas kods (laidiens) / Lot nummer / Batch-kode (parti) / Код партии (seria) / Código do lote / Cod de serie (Lot) / Код партии (лот) / Kód série (šarža) / Kod serije / Partinummer (Lot) / Parti Kodu (Lot) / Код партії



Consult Instructions for Use / Направете справка в инструкциите за употреба / Prostudujte pokyny k použití / Se brugsanvisningen / Gebrauchsanweisung beachten / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Consultar las instrucciones de uso / Lugeda kasutusjuhendit / Consulter la notice d'emploi / Koristi upute za upotrebu / Olvassa el a használati utasítást / Consultare le istruzioni per l'uso / Пайдалану нұсқаулығымен танысып алыңыз / Skaitykite naudojimo instrukcijas / Skatīt lietošanas pamācību / Raadpleeg de gebruiksaanwijzing / Se i brugsanvisningen / Zobacz instrukcja użytkowania / Consultar as instruções de utilização / Consultați instrucțiunile de utilizare / См. руководство по эксплуатации / Pozri Pokyny na používanie / Pogledajte uputstvo za upotrebu / Se bruksanvisningen / Kullanim Talimatları'na başvurun / Див. інструкції з використання



Becton, Dickinson and Company  
 7 Loveton Circle  
 Sparks, MD 21152 USA



Benex Limited  
 Pottery Road, Dun Laoghaire  
 Co. Dublin, Ireland