

BD BBL™ Crystal™ Identification Systems **Gram-Positive ID Kit**

English: pages 1 – 6 Italiano: pagine 15 – 19
Français : pages 6 – 10 Português: páginas 19 – 23
Deutsch: Seiten 10 – 14 Español: páginas 24 – 28



8809701JAA(03)
2016-02

Contact your local BD representative for instructions. / Свържете се с местния представител на BD за инструкции. / Pokyny vám poskytne 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 yhteyks lähimpään BD:n edustajaan ohjeiden saamiseksi. / Kontaktiraj lokalnog predstavnika BD za upute. / A használati utasítást kérje a BD helyi képviselőjétől. / 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 przedstawicielstwem BD. / Contacte o reprezentante local da BD para instruções. / Pentru instrucțiuni, 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

The **BD BBL™ Crystal™** Gram-Positive (GP) Identification (ID) system is a miniaturized identification method employing modified conventional, fluorogenic and chromogenic substrates. It is intended for the identification of frequently isolated aerobic gram-positive bacteria.^{1,2,13,16}

SUMMARY AND EXPLANATION

Micromethods for the biochemical identification of microorganisms were reported as early as 1918.³ Several publications reported on the use of the reagent-impregnated paper discs and micro-tube methods for differentiating enteric bacteria.^{3,4,7,17,19} The interest in miniaturized identification systems led to the introduction of several commercial systems in the late 1960s, and they provided advantages in requiring little storage space, extended shelf life, standardized quality control and ease of use.

In general, many of the tests used in the **BD BBL Crystal** ID Systems are modifications of classical methods. These include tests for fermentation, oxidation, degradation and hydrolysis of various substrates. In addition, there are chromogen and fluorogen linked substrates, as in the **BD BBL Crystal** GP ID panel, to detect enzymes that microbes use to metabolize various substrates.^{5,7,8,9,11,12,14,15}

The **BD BBL Crystal** GP ID kit is comprised of (i) **BD BBL Crystal** GP ID panel lids, (ii) **BD BBL Crystal** bases and (iii) **BD BBL Crystal** ANR, GP, RGP, N/H ID Inoculum Fluid (IF) tubes. The lid contains 29 dehydrated substrates and a fluorescence control on tips of plastic prongs. The base has 30 reaction wells. Test inoculum is prepared with the inoculum fluid and is used to fill all 30 wells in the base. When the lid is aligned with the base and snapped in place, the test inoculum rehydrates the dried substrates and initiates test reactions.

Following an incubation period, the wells are examined for color changes or presence of fluorescence that result from metabolic activities of the microorganisms. The resulting pattern of the 29 reactions is converted into a ten-digit profile number that is used as the basis for identification.¹⁶ Biochemical and enzymatic reaction patterns for the 29 **BD BBL Crystal** GP ID substrates for a wide variety of microorganisms are stored in the **BD BBL Crystal** GP ID data base. Identification is derived from a comparative analysis of the reaction pattern of the test isolate to those held in the database. A complete list of taxa that comprises the current database is provided in Table 1.

PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

The **BD BBL Crystal** GP ID panels contain 29 dried biochemical and enzymatic substrates. A bacterial suspension in the inoculum fluid is used for rehydration of the substrates. The tests used in the system are based on microbial utilization and degradation of specific substrates detected by various indicator systems. Enzymatic hydrolysis of fluorogenic substrates containing coumarin derivatives of 4-methylumbelliferone (4MU) or 7-amino-4-methylcoumarin (7-AMC), results in increased fluorescence that is easily detected visually with a UV light source.^{11,12,14,15} Chromogenic substrates upon hydrolysis produce color changes that can be detected visually. In addition, there are tests that detect the ability of an organism to hydrolyze, degrade, reduce or otherwise utilize a substrate in the **BD BBL Crystal** ID Systems.

Reactions employed by various substrates and a brief explanation of the principles employed in the system are described in Table 2. Panel location in referred tables indicates the row and column where the well is located (example: 1J refers to Row 1 in column J).

REAGENTS

The **BD BBL™ Crystal™** GP ID panel contains 29 enzymatic and biochemical substrates. Refer to Table 3 for a list of active ingredients.

Warnings and Precautions:

For *in vitro* Diagnostic Use.

After use, all infectious materials including plates, cotton swabs, inoculum fluid tubes, and panels must be autoclaved prior to disposal or incineration.

STORAGE AND HANDLING/SHELF LIFE

Lids: Lids are individually packaged and must be stored unopened in a refrigerator at 2–8 °C. **DO NOT FREEZE.** Visually inspect the package for holes or cracks in the foil package. Do not use if the packaging appears to be damaged. Lids in the original packaging, if stored as recommended, will retain expected reactivity until the date of expiration.

Bases: Bases are packaged in two sets of ten, in **BD BBL Crystal** incubation trays. The bases are stacked facing down to minimize air contamination. Store in a dust-free environment at 2–30 °C, until ready to use. Store unused bases in the tray, in plastic bag. Empty trays should be used to incubate inoculated panels.

Inoculum Fluid: **BD BBL Crystal** ANR, GP, RGP, N/H ID Inoculum Fluid (IF) is packaged in two sets of ten tubes. Visually inspect the tubes for cracks, leaks, etc. Do not use if there appears to be a leak, tube or cap damage or visual evidence of contamination (i.e., haziness, turbidity). Store tubes at 2–25 °C. Expiration dating is shown on the tube label. Only **BBL Crystal** ANR, GP, RGP, N/H Inoculum Fluid should be used with **BD BBL Crystal** GP ID panels.

On receipt, store the **BD BBL Crystal** GP ID kit at 2–8 °C. Once opened, only the lids need to be stored at 2–8 °C. The remaining components of the kit may be stored at 2–25 °C. If the kit or any of the components are stored refrigerated, each should be brought to room temperature prior to use.

SPECIMEN COLLECTION AND PROCESSING

BD BBL Crystal ID Systems are **not** for use directly with clinical specimens. Use isolates from media such as **Trypticase™** Soy Agar with 5% Sheep Blood (TSA II) or Columbia Agar with 5% Sheep Blood (Columbia). Use of selective media such as Phenylethyl Alcohol Agar with 5% Sheep Blood (PEA) or Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood (CNA) is also acceptable. Media containing esculin should not be used. The test isolate must be a pure culture, no more than 18–24 h old for most genera; for some slow growing organisms up to 48 h may be acceptable. When swabs are utilized, only cotton-tipped applicators should be used to prepare the inoculum suspensions. Some polyester swabs may cause problems with inoculation of the panels. (See "Limitations of the Procedure.") Once lids are removed from the sealed pouches, they must be used within 1 h to ensure adequate performance. The plastic cover should remain on the lid until used.

The incubator used should be humidified to prevent evaporation of fluid from the wells during incubation. The recommended humidity level is 40–60%. The usefulness of **BD BBL Crystal** ID Systems or any other diagnostic procedure performed on clinical specimens is directly influenced by the quality of the specimens themselves. It is strongly recommended that laboratories employ methods discussed in the *Manual of Clinical Microbiology* for specimen collection, transport and inoculation onto primary isolation media.^{1,16}

TEST PROCEDURE

Materials Provided: **BD BBL Crystal** GP ID Kit –

20 **BD BBL Crystal** GP ID Panel Lids,

20 **BD BBL Crystal** Bases,

20 **BD BBL Crystal** ANR, GP, RGP, N/H ID IF Tubes. Each tube has approximately 2.3 ± 0.15 mL of Inoculum Fluid containing: KCl 7.5 g, CaCl₂ 0.5 g, Tricine N-[2-Hydroxy-1, 1-bis (hydroxymethyl)methyl] glycine 0.895 g, purified water to 1000 mL.

2 incubation trays,

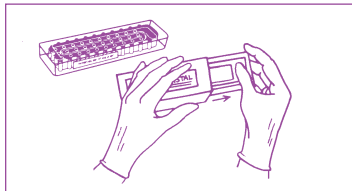
1 **BD BBL Crystal** GP ID Report Pad.

Materials Required But Not Provided: Sterile cotton swabs (do not use polyester swabs), incubator (35–37 °C) non-CO₂ (40–60% humidity), McFarland No. 0.5 standard, **BD BBL Crystal** Panel Viewer, **BD BBL Crystal** ID System Electronic Codebook or **BD BBL Crystal** GP Manual Codebook, and appropriate culture media.

Also required are the necessary equipment and labware used for preparation, storage and handling of clinical specimens.

Test Procedure: **BD BBL Crystal** GP ID System requires a Gram stain.

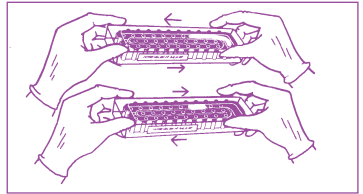
1. Remove lids from pouch. Discard desiccant. Once removed from the pouch, covered lids should be used within 1 h. Do not use the panel if there is no desiccant in the pouch.
2. Take an inoculum fluid tube and label with patient's specimen number. Using aseptic technique, with the tip of a sterile cotton swab (do not use a polyester swab) or a wooden applicator stick or disposable plastic loop, pick colonies of the same morphology from one of the recommended media (see section "Specimen Collection and Processing").
3. Suspend colonies in a tube of **BD BBL Crystal** ANR, GP, RGP, N/H ID Inoculum Fluid.



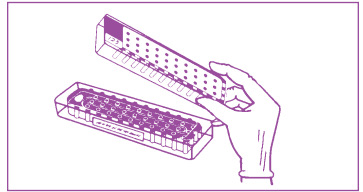
4. Recap tube and vortex for approximately 10–15 s. The turbidity should be equivalent to a McFarland No. 0.5 standard. If the inoculum suspension concentration is in excess of the recommended McFarland standard, one of the following steps is recommended:
 - a. Use a fresh tube of inoculum fluid to prepare a new inoculum suspension equivalent to a McFarland No. 0.5 standard.
 - b. If additional colonies are unavailable for preparation of a new inoculum suspension, using aseptic techniques, dilute the inoculum by adding the minimum required volume (not to exceed 1.0 mL) of 0.85% sterile saline or inoculum fluid to bring down the turbidity equivalent to a McFarland No. 0.5 standard. Remove the excess amount added to the tube with a sterile pipette so that the final volume of inoculum fluid is approximately equivalent to that of the original volume in the tube (2.3 ± 0.15 mL). Failure to make this adjustment in volume will result in spilling of the inoculum suspension over the black portion of the base rendering the panel unusable.
5. Take a base, and mark the patient's specimen number on the side wall.
6. Pour entire contents of the inoculum fluid tube into target area of the base.



7. Hold base in both hands and roll inoculum gently along the tracks until all of the wells are filled. Roll back any excess fluid to the target area and place the base on a bench top.



8. Align the lid so that the labeled end of the lid is on top of the target area of the base.

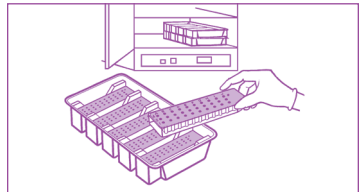


9. Push down until a slight resistance is felt. Place thumb on edge of lid towards middle of panel on each side and push downwards simultaneously until the lid snaps into place (listen for two "clicks").



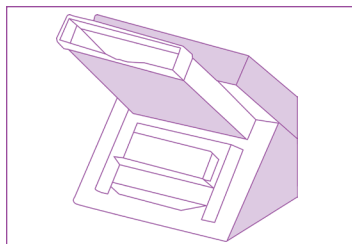
Purity Plate: Using a sterile loop, recover a small drop from the inoculum fluid tube either before or after inoculating the base and inoculate an agar slant or plate (any appropriate medium) for purity check. Discard inoculum fluid tube and cap in a biohazard disposal container. Incubate the slant or plate for 24–48 h at 35–37 °C under appropriate conditions. The purity plate or slant may also be used for any supplementary tests or serology, if required.

Incubation: Place inoculated panels in incubation trays. Ten panels can fit in one tray (5 rows of 2 panels). All panels should be incubated **face down** (larger windows facing up; label facing down) in a non-CO₂ incubator with 40–60% **humidity**. Trays should not be stacked more than two high during incubation. The incubation time for panels is 18–24 h at 35–37°C. If panels are incubated for 24 h, they should be read within 30 min after removing from incubator.



Reading: After the recommended period of incubation, remove the panels from the incubator. All panels should be read **face down** (larger windows up; label facing down) using the **BD BBL™ Crystal™** Panel Viewer. Refer to the color reaction chart and/or Table 3 for an interpretation of the reactions. Use the **BD BBL Crystal GP Report Pad** to record reactions. Alternatively, the **BD BBL Crystal AutoReader** may be used to read the panels.

- Read columns E thru J first, using the regular (white) light source.
- Read columns A thru D (fluorescent substrates) using the UV light source in the panel viewer. A fluorescent substrate well is considered positive *only if* the intensity of the fluorescence observed in the well is *greater* than the Negative Control well (4A).



Calculation of BD BBL Crystal Profile Number: Each test result (except 4A, which is used as a fluorescence negative control) scored positive is given a value of 4, 2, or 1, corresponding to the row where the test is located. A value of 0 (zero) is given to any negative result. The values resulting from each positive reaction in each column are then added together. A 10-digit number is generated; this is the profile number.

Example:	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4	*	+	-	-	+	+	+	-	+	-
2	-	+	+	+	-	+	-	+	+	-
1	+	-	+	-	+	-	-	+	+	-
Profile	1	6	3	2	5	6	4	3	7	0

* (4A) = fluorescent negative control

The resulting profile number and cell morphology, if known, should be entered on a PC in which the **BD BBL Crystal** mind software has been installed to obtain the identification. A manual codebook is also available. If a PC is not available contact BD Technical Services for assistance with the identification. If using the **BD BBL Crystal AutoReader**, organisms are automatically identified by the PC.

User Quality Control: Quality control testing is recommended for each lot of panels as follows –

- Inoculate a panel with *Streptococcus pyogenes* ATCC™ 19615 per recommended procedure (refer to “Test Procedure”).
- Incubate panel for 18–20 h at 35–37 °C.
- Read panel with the panel viewer and color reaction chart; record reactions using the report pad. Alternatively, read the panel on the **BD BBL Crystal AutoReader**.
- Compare recorded reactions with those listed in Table 4. If discrepant results are obtained, confirm purity of quality control strain before contacting BD Technical Services.

Expected test results for additional quality control test strains are listed in Table 5.

Quality control requirements must be performed in accordance with applicable local, state and/or federal regulations or accreditation requirements and your laboratory’s standard Quality Control procedures. It is recommended that the user refer to pertinent CLSI guidance and CLIA regulations for appropriate Quality Control practices.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

The **BD BBL Crystal GP ID System** is designed for the taxa provided. Taxa other than those listed in Table 1 are not intended for use in this system.

The **BD BBL Crystal GP ID** database was developed with **BBL™** brand media. Reactivity of some substrates in miniaturized identification systems may be dependent upon the source media used in inoculum preparations. We recommend the use of the following media for use with the **BD BBL Crystal GP ID System**: TSA II and Columbia Blood Agar. Use of selective media, such as PEA or CNA is also acceptable. Media containing esculin should not be used.

BD BBL Crystal Identification Systems use a modified microenvironment; therefore, expected values for its individual tests may differ from information previously established with conventional test reactions. The accuracy of the **BD BBL Crystal GP ID System** is based on statistical use of specially designed tests and an exclusive database.

While **BD BBL Crystal GP ID System** aids in microbial differentiation, it should be recognized that minor variations may exist in strains within species. Use of panels and interpretation of results require a competent microbiologist. The final identification of the isolate should take into consideration the source of the specimen, aerotolerance, cell morphology, colonial characteristics on various media as well as metabolic end products as determined by gas-liquid chromatography, when warranted.

While the majority of *Enterococcus faecium* isolates identify correctly in the **BD BBL Crystal GP System**, some strains of Vancomycin Resistant *Enterococcus faecium* produce atypical substrate reactions that can lead to an identification of *Enterococcus durans* or, less frequently, *Helcococcus kunzii*. Therefore, confirmatory testing is recommended when either *Enterococcus durans* or *Helcococcus kunzii* is reported as the identification.

Only cotton-tipped applicator swabs should be used to prepare the inoculum suspension as some polyester swabs may cause the inoculum fluid to become viscous. This may result in insufficient inoculum fluid to fill the wells. Once lids are removed from the sealed pouches they must be used within 1 h to ensure adequate performance. The plastic cover should remain on the lid until used.

The incubator where panels are placed should be humidified to prevent evaporation of inoculum fluid from the wells during incubation. The recommended humidity level is 40–60%.

The panels, after inoculation, should only be incubated **face down** (larger windows facing up; label facing down) to maximize the effectiveness of substrates.

If the **BD BBL™ Crystal™** test profile yields a “No identification” result and culture purity has been confirmed, then it is likely that (i) the test isolate is producing *atypical BD BBL Crystal reactions* (which may also be caused by procedural errors), (ii) the test species is not part of the intended taxa or (iii) the system is unable to identify the test isolate with the required level of confidence. Conventional test methods are recommended when user error has been ruled out.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Reproducibility: In an external study involving four clinical laboratories, (total of four evaluations), the reproducibility of **BD BBL Crystal GP ID** substrate (29) reactions was studied by replicate testing. The reproducibility of the individual substrate reactions ranged from 79.2% to 100%. The overall reproducibility of **BD BBL Crystal GP ID** panel was determined to be 96.7%.²⁰

Accuracy of Identification: The performance of **BD BBL Crystal GP ID** System was compared to currently available commercial systems using **clinical isolates and stock cultures**. A total of four studies were conducted in four independent laboratories. Fresh, routine isolates arriving in the clinical laboratory, as well as previously identified isolates of the clinical trial sites’ choice were utilized to establish performance characteristics.

Out of 735 total isolates tested from the studies, 668 (90.9%) were correctly identified (including isolates that required supplemental testing) by the **BD BBL Crystal GP** Identification System. A total of 56 (7.6%) isolates were incorrectly identified, and a message of “No Identification” was obtained for 11 (1.5%) isolates.²⁰

AVAILABILITY

Cat. No.	Description	Cat. No.	Description
245140	BD BBL™ Crystal™ GP Gram-Positive ID System, 1 Kit.	221165	BD BBL™ Columbia Agar with 5% Sheep Blood, pkg. of 20.
245038	BD BBL™ Crystal™ ANR, GP, RGP, N/H ID Inoculum Fluid.	221263	BD BBL™ Columbia Agar with 5% Sheep Blood, ctn. of 100.
245031	BD BBL™ Crystal™ Panel Viewer, Domestic model, 110 V, 60 Hz.	221352	BD BBL™ Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, pkg. of 20.
245032	BD BBL™ Crystal™ Panel Viewer, European model, 220 V, 50 Hz.	221353	BD BBL™ Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, ctn. of 100.
245033	BD BBL™ Crystal™ Panel Viewer, Japanese model, 100 V, 50/60 Hz.	221179	BD BBL™ Phenylethyl Alcohol Agar with 5% Sheep Blood, pkg. of 20.
245034	BD BBL™ Crystal™ Panel Viewer, Longwave UV Tube.	221277	BD BBL™ Phenylethyl Alcohol Agar with 5% Sheep Blood, ctn. of 100.
245036	BD BBL™ Crystal™ Panel Viewer, White Light Tube.	221239	BD BBL™ Trypticase™ Soy Agar with 5% Sheep Blood (TSA II), pkg. of 20.
245037	BD BBL™ Crystal™ Identification Systems Gram-Positive Manual Codebook.	221261	BD BBL™ Trypticase™ Soy Agar with 5% Sheep Blood (TSA II), ctn. of 100.
441010	BD BBL™ Crystal™ Mind Software	212539	BD BBL™ Gram Stain Kit, pkg. of 4 x 250 mL bottles.

REFERENCES

- Balows, A., W.J. Hausler, Jr., K.L. Herrmann, H.D. Isenberg, and H.J. Shadomy (ed.). 1991. Manual of clinical microbiology, 5th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Baron, E.J., L.R. Peterson, and S.M. Finegold. 1994. Bailey and Scott’s diagnostic microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis.
- Bronfenbrenner, J., and M.J. Schlesinger. 1918. A rapid method for the identification of bacteria fermenting carbohydrates. *Am. J. Public Health.* 8:922-923.
- Cowan, S.T., and K.J. Steel. 1974. Manual for the identification of medical bacteria. 2nd ed. Cambridge University Press, Cambridge.
- Edberg, S.C., and C.M. Kontrick. 1986. Comparison of b-glucuronidase-based substrate systems for identification of *Escherichia coli*. *J. Clin. Microbiol.* 24:368-371.
- Ferguson, W.W., and A.E. Hook. 1943. Urease activity of *Proteus* and *Salmonella* organisms. *J. Lab. Clin. Med.* 28:1715-1720.
- Hartman, P.A. 1968. Miniaturized microbiological methods. Academic Press, New York.
- Kampfer, P., O. Rauhoff, and W. Dott. 1991. Glycosidase profiles of members of the family *Enterobacteriaceae*. *J. Clin. Microbiol.* 29:2877-2879.
- Killian, M., and P. Bulow. 1976. Rapid diagnosis of *Enterobacteriaceae* 1: detection of bacterial glycosidases. *Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sect. B.* 84:245-251.
- MacFaddin, J.F. 1980. Biochemical tests for identification of medical bacteria, 2nd ed. Williams & Wilkins, Baltimore.
- Maddocks, J.L., and M. Greenan. 1975. Rapid method for identifying bacterial enzymes. *J. Clin. Pathol.* 28:686-687.

12. Manafi, M., W. Kneifel, and S. Bascomb. 1991. Fluorogenic and chromogenic substrates used in bacterial diagnostics. *Microbiol. Rev.* 55:335-348.
13. Mandell, G.L., R.G. Douglas, Jr. and J.E. Bennett. 1990. Principles and practice of infectious diseases, 3rd ed. Churchill Livingstone Inc., New York.
14. Mangels, J., I. Edvalson, and M. Cox. 1993. Rapid identification of *Bacteroides fragilis* group organisms with the use of 4-methylumbelliferone derivative substrates. *Clin. Infect. Dis.* 16(54):5319-5321.
15. Moncla, B.J., P. Braham, L.K. Rabe, and S.L. Hiller. 1991. Rapid presumptive identification of black-pigmented gram-negative anaerobic bacteria by using 4-methylumbelliferone derivatives. *J. Clin. Microbiol.* 29:1955-1958.
16. Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.). 1995. Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
17. Sanders, A.C., J.E. Faber, and T.M. Cook. 1957. A rapid method for the characterization of enteric pathogen using paper discs. *Appl. Microbiol.* 5:36-40.
18. Sneath, P.H.A. 1957. The application of computers to taxonomy. *J. Gen. Microbiol.* 17:201-221.
19. Soto, O.B. 1949. Fermentation reactions with dried paper discs containing carbohydrate and indicator. *Puerto Rican J. Public Health. Trop. Med.* 25:96-100.
20. Data on file at BD Diagnostics.

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

BD Système d'identification BBL Crystal

Trousse pour l'identification des bactéries gram-positives

Français

APPLICATION

Le système **BD BBL Crystal** pour l'identification (ID) des bactéries gram-positives (GP) est une méthode d'identification miniaturisée utilisant des substrats chromogènes, fluorogènes et conventionnels modifiés. Il a pour but d'identifier les bactéries aérobies gram-positives fréquemment isolées à partir d'échantillons cliniques.^{1,2,13,16}

RESUME ET EXPLICATION

L'emploi de microméthodes d'identification biochimique des microorganismes remonte à 1918.³ Plusieurs publications font état de l'utilisation de disques de papier imprégnés de réactifs et de microtubes pour différencier les entérobactéries.^{3,4,7,17,19} L'intérêt suscité par les systèmes d'identification miniaturisés a conduit à la commercialisation de plusieurs systèmes à la fin des années 60. Ces derniers avaient pour avantage d'être faciles à utiliser, de ne requérir qu'un espace de stockage restreint tout en offrant une durée de conservation prolongée et un contrôle de qualité standardisé.

En général, plusieurs des tests utilisés dans les systèmes **BD BBL Crystal** ID sont des modifications de méthodes classiques. Ils comprennent des tests de fermentation, d'oxydation, de dégradation et d'hydrolyse de différents substrats. De plus, des substrats sont couplés à un chromogène ou un fluorogène, comme dans le cas des panels **BD BBL Crystal** GP ID, afin de détecter les enzymes utilisées par les microorganismes pour métaboliser ces substrats.^{5,7,8,9,11,12,14,15}

La trousse **BD BL Crystal** GP ID est composée (i) de couvercles pour panels **BD BBL Crystal** GP ID, (ii) de bases **BD BBL Crystal** et (iii) de tubes de solution **BD BBL Crystal** ANR, GP, RGP, N/H ID pour l'inoculum (IF). Le couvercle contient 29 substrats déshydratés et un contrôle fluorescent situés à l'extrémité de pointes de plastique. La base comprend 30 puits réactionnels. L'inoculum à tester est préparé à l'aide de la solution pour l'inoculum et permet de remplir la totalité des 30 puits de la base. Lorsque le couvercle est aligné avec la base et correctement emboîté, l'inoculum à tester réhydrate les substrats secs et amorce les réactions propres aux différents tests.

Après une période d'incubation, les puits sont examinés afin de déceler des changements de coloration ou la présence d'une fluorescence résultant de l'activité métabolique des microorganismes. L'ensemble des résultats des 29 réactions est converti en un profil numérique de 10 chiffres servant de base à l'identification.¹⁸ Les profils réactionnels biochimiques et enzymatiques pour les 29 substrats du système **BD BBL Crystal** GP ID obtenus pour une large gamme de microorganismes sont stockés dans la base de données **BD BBL Crystal** GP ID. L'identification repose sur la comparaison entre les profils réactionnels obtenus avec l'isolat et ceux contenus dans la base de données. La liste taxonomique complète contenue actuellement dans la base de données est donnée au tableau 1.

PRINCIPES DE LA METHODE

Les panels **BD BBL Crystal** GP ID contiennent 29 substrats biochimiques et enzymatiques déshydratés. Une suspension bactérienne contenue dans la solution pour l'inoculum est utilisée pour réhydrater les substrats. Les tests utilisés dans le système reposent sur l'utilisation et la dégradation microbienne de substrats spécifiques détectés par différents systèmes d'indicateurs. L'hydrolyse enzymatique des substrats fluorogènes contenant des dérivés coumariniques de 4-méthylumbelliféron (4MU) ou de 7-amino-4-méthylcoumarine (7-AMC), résulte en une augmentation de la fluorescence facilement détectée à l'aide d'une lampe à UV.^{11,12,14,15} L'hydrolyse des substrats chromogènes entraîne des changements de coloration pouvant être détectés à l'oeil nu. De plus, les systèmes **BD BBL Crystal** ID comportent d'autres tests permettant de détecter la capacité d'un organisme à hydrolyser, dégrader, réduire ou utiliser autrement un substrat.

Les réactions impliquées dans l'utilisation des différents substrats ainsi qu'une courte explication des principes sur lesquels repose le système figurent au tableau 2. La position dans les tableaux indique le rang et la colonne correspondant à l'emplacement des puits dans les panels (exemple : 1J correspond au rang 1 de la colonne J).

REACTIFS

Le panel **BD BBL Crystal** GP ID contient 29 substrats enzymatiques et biochimiques. Se référer au tableau 3 pour une liste des ingrédients actifs.

Avertissements et précautions :

Réservé au diagnostic *in vitro*.

Après usage, tout le matériel contaminé incluant les géloses, les écouvillons, les tubes pour la solution d'inoculum, les papiers filtres utilisés pour les tests d'indole et les panels doivent être autoclavés avant d'être éliminés ou incinérés.

CONSERVATION ET MANIPULATION/DUREE DE CONSERVATION

Couvercles : les couvercles sont emballés individuellement. Ils doivent être conservés dans leur emballage fermé, dans un réfrigérateur à une température de 2–8 °C. **NE PAS CONGELER**. Avant utilisation, vérifier que l'emballage n'est ni percé ni déchiré. Ne pas utiliser si l'emballage semble endommagé. S'ils sont conservés dans leur emballage d'origine selon les consignes de conservation énumérées ci-dessus, les couvercles garderont toutes leurs propriétés réactionnelles jusqu'à la date de péremption.

Bases : les bases se présentent sous forme de deux paquets de dix, dans des plaques d'incubation **BD BBL Crystal**. Les bases sont empliées la face vers le bas afin de réduire les risques de contamination par l'air. Conserver à l'abri de la poussière, à une température de 2–30 °C, jusqu'à leur utilisation. Conserver les bases inutilisées dans la plaque, dans un sac plastique. Les plaques vides doivent être utilisées pour incuber les panels inoculés.

Solution pour l'inoculum : la solution **BD BBL Crystal** ANR, GP, RGP, N/H ID pour l'inoculum (IF) se présente sous forme de deux paquets de dix tubes. Vérifier visuellement l'absence de fissures, de fuites, etc. Ne pas utiliser en cas de fuite, de tube ou de bouchon endommagé ou de contamination visible à l'oeil nu (c.-à-d. opacité, turbidité). Conserver les tubes à une température de 2–25 °C. La date de péremption est indiquée sur l'étiquette du tube. Seule la solution **BD BBL Crystal** ANR, GP, RGP, N/H pour l'inoculum doit être utilisée avec les panels **BD BBL Crystal** GP ID.

Dès réception, conserver la trousse **BD BBL Crystal** GP ID à une température de 2–8 °C. Une fois le carton ouvert, seuls les couvercles ont besoin d'être conservés à 2–8 °C. Les autres composants de la trousse pourront être conservés à 2–25 °C. Si la trousse ou un composant quelconque de la trousse se conserve au réfrigérateur, il sera nécessaire de le ramener à température ambiante avant utilisation.

PRELEVEMENT ET TRAITEMENT DES ECHANTILLONS

Les systèmes **BD BBL Crystal** ID ne sont pas conçus pour être utilisés directement avec des échantillons cliniques. Utiliser des isolats provenant de milieux tels que la gélose au Soja **Trypticase** avec 5 % sang de mouton (TSA II) ou la gélose Columbia avec 5 % de sang de mouton (Columbia). L'utilisation de milieux sélectifs telles que la gélose d'alcool phényléthylique avec 5 % de sang de mouton (PEA) ou la gélose Columbia CNA avec 5 % de sang de mouton (CNA) est acceptable. Les milieux contenant l'esculine ne doivent pas être utilisés. Pour la plupart des genres bactériens, l'isolat testé doit être une culture pure de 18–24 h ; pour certains organismes à croissance lente, des cultures de 48 h peuvent être acceptables. Lorsque les écouvillons sont utilisés pour préparer les suspensions de l'inoculum, se servir uniquement des applicateurs à embout de coton. Certains écouvillons en polyester peuvent ne pas permettre une inoculation adéquate des panels (voir "Limites de la Méthode"). Les couvercles, une fois retirés de leur sachet scellé, doivent être utilisés dans un délai d'une heure afin de s'assurer d'une performance adéquate. Les couvercles doivent rester dans leur sac plastique jusqu'à utilisation.

L'incubateur utilisé doit être en atmosphère humide afin de prévenir une évaporation du liquide contenu dans les puits durant l'incubation. Le taux d'humidité recommandé est de 40–60 %. L'utilité des systèmes **BD BBL Crystal** ID ou de toute autre méthode de diagnostic utilisée avec des échantillons cliniques dépend directement de la qualité des échantillons eux-mêmes. Il est fortement recommandé aux laboratoires d'utiliser les méthodes décrites dans le "*Manual of Clinical Microbiology*" pour le prélèvement des échantillons, leur transport et leur ensemencement sur des milieux d'isolement primaires.^{1,16}

METHODOLOGIE DU TEST

Matériel fourni : trousse **BD BBL Crystal** GP ID –

20 couvercles pour panels **BD BBL Crystal** GP ID,

20 bases **BD BBL Crystal**,

20 tubes de solution **BD BBL Crystal** ANR, GP, RGP, N/H ID pour l'inoculum (IF). Chaque tube contient approximativement 2,3 ± 0,15 mL de solution pour l'inoculum, laquelle est composée de : KCl 7,5 g, CaCl₂ 0,5 g, Tricine N-[2-Hydroxy-1, 1-bis (hydroxyméthyl)méthyl] glycine 0,895 g, eau purifiée qsp 1000 mL.

2 plaques d'incubation,

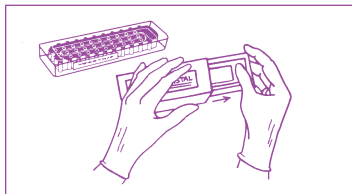
1 formulaire de résultat **BD BBL Crystal** GP ID.

Matériaux requis mais non fournis : écouvillons stériles avec embout de coton (*ne pas utiliser d'écouvillons en polyester*), incubateur (35–37 °C) sans CO₂ (40–60 % d'humidité), degré McFarland N° 0,5, visionneuse pour panels **BD BBL Crystal**, livre électronique des codes pour les systèmes **BD BBL Crystal** ID ou manuel des codes **BD BBL Crystal** GP et les milieux de culture appropriés.

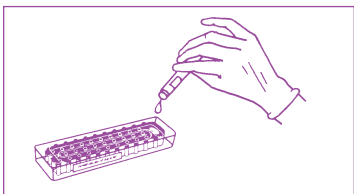
L'équipement et la verrerie de laboratoire utilisés pour la préparation, la conservation et la manipulation d'échantillons cliniques sont aussi requis.

Mode opératoire du test : le système **BD BBL Crystal** GP ID requiert une coloration de Gram.

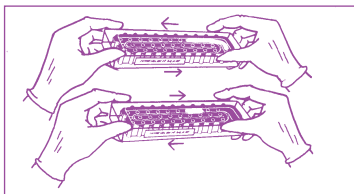
- Retirer le couvercle de son emballage. Éliminer le dessiccateur. Les couvercles avec protecteur doivent être utilisés dans l'heure qui suit l'ouverture de l'emballage. S'il n'y a pas de dessiccateur dans l'emballage, ne pas utiliser le panel.



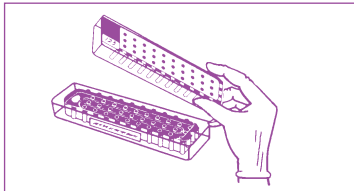
2. Prendre un tube de solution pour l'inoculum et reporter sur l'étiquette le numéro attribué à l'échantillon du patient. A partir d'une des géloses recommandées (voir "Prélèvement et traitement des échantillons"), prélever, en respectant les mesures d'asepsie, plusieurs colonies de morphologie identique en utilisant un écouvillon stérile avec embout de coton (*ne pas utiliser d'écouvillon en polyester*) ou un bâtonnet applicateur en bois ou une anse en plastique jetable.
3. Suspender les colonies dans un tube de solution pour l'inoculum **BD BBL Crystal ANR, GP, RGP, N/H ID**.
4. Reboucher le tube et agiter au vortex pendant 10–15 s. La turbidité devrait être au moins équivalente au degré McFarland N° 0,5. Si la concentration de la suspension de l'inoculum dépasse le degré de McFarland recommandé, une des étapes suivantes est recommandée :
 - a. Utiliser un nouveau tube de solution pour l'inoculum pour préparer une nouvelle suspension d'inoculum équivalent au degré McFarland N° 0,5.
 - b. Si on ne dispose pas d'autres colonies pour préparer une nouvelle suspension d'inoculum, diluer, en respectant les règles d'asepsie, l'inoculum avec le volume minimum nécessaire (ne pas dépasser 1,0 mL) de sérum physiologique stérile à 0,85 % ou de solution pour l'inoculum afin de réduire la turbidité au degré McFarland N° 0,5. Enlever l'excédent à l'aide d'une pipette stérile afin que le volume final de la solution pour l'inoculum soit approximativement équivalent au volume initial du tube soit $2,3 \pm 0,15$ mL. Si le volume n'est pas ajusté de cette façon, la suspension de l'inoculum se répandra sur la partie noire de la base rendant ainsi le panel inutilisable.
5. Prendre une base et reporter le numéro d'échantillon du patient sur la paroi latérale.
6. Verser le contenu du tube de solution de l'inoculum dans la zone cible de la base.



7. Prendre la base à deux mains et faire glisser doucement l'inoculum le long des conduits jusqu'à ce que tous les puits soient entièrement remplis. Faire *refluer* l'excédent vers la zone cible et placer la base sur la surface de travail.



8. Placer le couvercle de manière à ce que l'extrémité portant une étiquette recouvre la zone cible de la base.

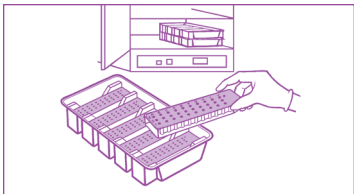


9. Appuyer jusqu'à ce qu'une légère résistance soit perçue. Placer les pouces de chaque côté du couvercle, près du bord du couvercle et à peu près au centre du panel, et appuyer simultanément avec les deux pouces jusqu'à ce que le couvercle soit parfaitement emboîté (on entend alors deux "déclics").



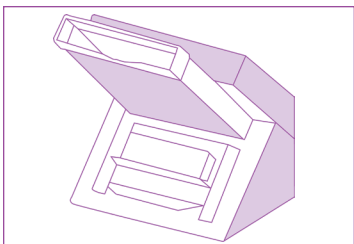
Gélose de contrôle de pureté : à l'aide d'une anse stérile, récupérer une goutte de solution d'inoculum dans le tube avant ou après avoir inoculé la base et ensemercer une gélose en boîte ou en tube incliné (tout milieu approprié) pour vérifier la pureté de l'inoculum. Jeter le tube pour la solution d'inoculum et son bouchon dans un récipient pour déchets à risque biologique. Incuber la boîte ou le tube pendant 24–48 h à une température de 35–37 °C dans des conditions appropriées. La gélose de contrôle de pureté peut également être utilisée pour effectuer des tests supplémentaires ou une épreuve sérologique, si nécessaire.

Incubation : placer les panels ensemençés dans les plaques d'incubation. Chaque plaque peut contenir dix panels (5 rangées de 2 panels). Tous les panels doivent être incubés **face vers le bas** (les fenêtres les plus larges étant placées face vers le haut, et l'étiquette, face vers le bas) dans un incubateur sans CO₂, à 40–60 % d'humidité. Ne pas empiler plus de deux plaques lors de l'incubation. Le temps d'incubation pour les panels est de 18–24 h à une température de 35–37 °C. Si les panels sont incubés pendant 24 h, ils doivent être lus dans un délai de 30 min une fois retirés de l'incubateur.



Lecture : lorsque le temps d'incubation requis est atteint, retirer les panels de l'incubateur. Tous les panels doivent être lus **face vers le bas** (les fenêtres les plus larges étant placées face vers le haut, et l'étiquette, face vers le bas) à l'aide de la visionneuse pour panels **BD BBL Crystal**. Se référer à la grille d'interprétation des réactions colorées et/ou au tableau 3 pour l'interprétation des réactions. Utiliser le formulaire de résultat **BD BBL Crystal GP** pour enregistrer les réactions. Le lecteur automatique **BD BBL Crystal** peut également être utilisé pour lire les panels.

- En premier, lire les colonnes E à J en se servant de la source de lumière régulière (lumière blanche).
- Lire les colonnes A à D (substrats fluorescents) en se servant de la source de lumière UV de la visionneuse pour panels. Un puits contenant un substrat fluorescent est considéré positif *seulement si* la fluorescence observée dans ce puits est *plus importante* que celle observée dans le puits de contrôle négatif (4A).



Calcul du profil numérique BD BBL Crystal : le résultat 4A qui est utilisé à titre de contrôle négatif pour la fluorescence est exclu du calcul. Chaque résultat de test interprété comme positif se voit attribuer une valeur de 4, 2 ou 1 en fonction du rang dans lequel le test était localisé. Chaque résultat de test interprété comme négatif se voit attribuer la valeur 0 (zéro). Les valeurs des tests positifs de chaque colonne sont additionnées. On obtient alors un nombre de 10 chiffres ; ce nombre est le profil numérique.

Exemple:	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4	*	+	-	-	+	+	+	-	+	-
2	-	+	+	+	-	+	-	+	+	-
1	+	-	+	-	+	-	-	+	+	-
Profil	1	6	3	2	5	6	4	3	7	0

* (4A) = Contrôle négatif fluorescent

Le numéro profil qui en résulte ainsi que la morphologie cellulaire doivent être saisis sur un PC dans lequel le logiciel **BD BBL Crystal Mind** a été installé, afin d'obtenir l'identification. Un manuel des codes est également disponible. Si vous ne disposez pas d'un PC, contactez les services techniques de BD pour l'aide à l'identification. Avec le lecteur automatique **BD BBL Crystal**, les microorganismes sont identifiés automatiquement par l'ordinateur.

Contrôle de qualité réalisé par l'utilisateur : les contrôles de qualité suivants sont recommandés pour chaque lot de panels –

- Ensemencer un panel avec la souche *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 selon les recommandations (voir "Mode opératoire du test").
- Incuber le panel pendant 18–20 h à une température de 35–37 °C.
- Lire le panel à l'aide de la visionneuse pour panels et de la grille d'interprétation des réactions colorées ; enregistrer les réactions en utilisant le formulaire de résultat. Le lecteur automatique **BD BBL Crystal** peut également être utilisé pour lire les panels.
- Comparer les réactions enregistrées avec celles données au tableau 4. En cas de résultats discordants, confirmer la pureté de la souche de contrôle de qualité avant de contacter les services techniques de BD Diagnostics.

Les résultats attendus pour chaque test effectué avec des souches supplémentaires de contrôle de qualité figurent au tableau 5.

Effectuer les contrôles de qualité conformément aux réglementations nationales et/ou internationales, aux exigences des organismes d'homologation concernés et aux procédures de contrôle de qualité en vigueur dans l'établissement. Il est recommandé à l'utilisateur de consulter les directives CLSI et la réglementation CLIA concernées pour plus d'informations sur les modalités de contrôle de qualité.

LIMITES DE LA METHODE

Le système **BD BBL Crystal GP ID** est conçu pour être utilisé avec des taxons prédéterminés. Les taxons autres que ceux énumérés dans le tableau 1 ne doivent pas être testés avec ce système.

La base de données **BD BBL Crystal GP ID** a été développée en utilisant des milieux de marque **BBL**. La réactivité de certains substrats dans des systèmes d'identification miniaturisés peut dépendre du milieu de culture de base utilisé lors de la préparation de l'inoculum. Nous recommandons les milieux énumérés ci-après pour utilisation avec le système **BD BBL Crystal GP ID** : TSA II et gélose de sang Columbia. L'utilisation de géloses sélectives, telles PEA ou CNA est acceptable. Les milieux contenant de l'esculine ne doivent pas être utilisés.

Les systèmes d'identification **BD BBL Crystal** font appel à un micro-environnement modifié ; c'est pourquoi les valeurs prévues pour les tests individuels peuvent différer des informations obtenues précédemment avec des tests conventionnels. L'exactitude du système **BD BBL Crystal GP ID** repose sur l'analyse statistique de tests spécialement conçus et sur une base de données exclusive.

Bien que le système **BD BBL Crystal GP ID** facilite la différenciation microbienne, il faut tenir compte que des souches d'une même espèce peuvent présenter des variations mineures. Un microbiologiste compétent doit utiliser les panels et interpréter les résultats. L'identification finale de l'isolat doit tenir compte de la provenance de l'échantillon, la tolérance de l'isolat à l'oxygène, la morphologie cellulaire, les caractéristiques des colonies sur divers milieux de culture ainsi que de l'identification des produits de dégradation par chromatographie gaz-liquide si nécessaire.

Alors que la majorité des isolats d'*Enterococcus faecium* sont correctement identifiés par le système **BD BBL Crystal GP**, certaines souches d'*Enterococcus faecium* résistantes à la vancomycine produisent des réactions atypiques au niveau du substrat, ce qui peut les faire identifier comme *Enterococcus durans* ou moins fréquemment comme *Helcococcus kunzii*. C'est pourquoi, des tests de confirmation sont nécessaires lorsque l'identification correspond à l'un ou l'autre de ces deux organismes.

Pour la préparation de la suspension de l'inoculum, n'utiliser que des écouvillons à embout de coton, certains écouvillons en polyester peuvent rendre visqueuse la solution pour l'inoculum. Cette viscosité peut résulter en un volume insuffisant de solution

pour remplir les puits. Les couvercles, une fois retirés de leur sachet scellé, doivent être utilisés dans un délai de 1 h afin de s'assurer d'une performance adéquate. Les couvercles doivent rester dans leur poche en plastique jusqu'à leur utilisation.

L'incubateur où sont placés les panels doit être en atmosphère humide afin de prévenir une évaporation de la solution d'inoculum contenue dans les puits durant l'incubation. Le taux d'humidité recommandé est de 40–60 %.

Les panels ensemencés doivent absolument être incubés **face vers le bas** (les fenêtres les plus larges étant placées face vers le haut, et l'étiquette, face vers le bas) afin de maximiser l'efficacité des substrats.

Si le profil numérique **BD BBL Crystal** donne un résultat "Aucune identification" et que la pureté de la culture a été confirmée, il est alors probable que (i) l'isolat testé produit des *réactions BD BBL Crystal atypiques* (qui peuvent aussi être causées par des erreurs de procédure), (ii) l'espèce testée n'est pas incluse dans les taxons prédéterminés ou (iii) le système n'est pas capable d'identifier l'isolat testé avec le niveau de confiance requis. Des méthodes d'identification conventionnelles sont recommandées après qu'une erreur de l'utilisateur ait été éliminée comme cause de ce résultat.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

Reproductibilité : dans une étude externe impliquant quatre laboratoires cliniques (un total de quatre évaluations), la reproductibilité des réactions des substrats (29) du système **BD BBL Crystal GP ID** a été évaluée lors de tests répétés. La reproductibilité des réactions de chaque substrat se situait entre 79,2 % et 100 %. La reproductibilité globale des panels **BD BBL Crystal GP ID** a été déterminée comme étant 96,7 %.²⁰

Exactitude de l'identification : la performance du système **BD BBL Crystal GP ID** a été comparée à celle de systèmes d'identification actuellement disponibles sur le marché à l'aide d'isolats cliniques et de cultures mères. Un total de quatre études a été réalisé dans quatre laboratoires indépendants. Des isolats de routine parvenant au laboratoire clinique ainsi que des isolats préalablement identifiés (sélectionnés par les laboratoires participants) ont été utilisés pour établir les caractéristiques de performance.

Parmi les 735 isolats testés lors des études, 668 (90,9 %) isolats ont été correctement identifiés (incluant les isolats ayant requis des tests supplémentaires) par le système d'identification **BD BBL Crystal GP**. Un total de 56 (7,6 %) isolats ont été incorrectement identifiés et un message "Aucune identification" a été obtenu avec 11 (1,5 %) isolats.²⁰

MATÉRIEL DISPONIBLE

N° cat.	Description	N° cat.	Description
245140	BD BBL Crystal GP Gram-Positive ID System, 1 trousse.	221165	Gélose Columbia BD BBL avec 5 % de sang de mouton, coffret de 20 géloses.
245038	BD BBL Crystal ANR, GP, RGP, N/H ID Inoculum Fluid (solution pour l'inoculum).	221263	Gélose Columbia BD BBL avec 5 % de sang de mouton, carton de 100 géloses.
245031	Visionneuse pour panels BD BBL Crystal modèle U.S.A., 110 V, 60 Hz.	221352	Gélose Columbia CNA BD BBL avec 5 % de sang de mouton, coffret de 20 géloses.
245032	Visionneuse pour panels BD BBL Crystal , modèle européen, 220 V, 50 Hz.	221353	Gélose Columbia CNA BD BBL avec 5 % de sang e mouton, carton de 100 géloses.
245033	Visionneuse pour panels BD BBL Crystal , modèle japonais, 100 V, 50/60 Hz.	221179	Gélose d'alcool phényléthylique BD BBL avec 5 % de sang de mouton, coffret de 20 géloses.
245034	Tube d'éclairage UV à ondes longues pour visionneuse pour panels BD BBL Crystal .	221277	Gélose d'alcool phényléthylique BD BBL avec 5 % de sang de mouton, carton de 100 géloses.
245036	Tube d'éclairage à lumière blanche pour visionneuse pour panels BD BBL Crystal .	221239	Gélose de soja Trypticase BD BBL avec 5 % de sang de mouton (TSA II), coffret de 20 géloses.
245037	Manuel des codes pour le système BD BBL Crystal d'identification des bactéries gram-positives.	221261	Gélose de soja Trypticase BD BBL avec 5 % de sang de mouton (TSA II), carton de 100 géloses.
441010	Logiciel BD BBL Crystal Mind.	212539	Trousse de colorants de Gram BD BBL , coffret de 4 flacons de 250 mL.

BIBLIOGRAPHIE : voir la rubrique "References" du texte anglais.

Service et assistance technique de BD Diagnostics : contacter votre représentant local de BD ou consulter le site www.bd.com/ds.

BD BBL Crystal Identifizierungssysteme

Testsystem zur Identifizierung von grampositiven Bakterien

Deutsch

VERWENDUNGSZWECK

Das **BD BBL Crystal** Testsystem zur Identifizierung (ID) von grampositiven Bakterien (GP) ist eine miniaturisierte Identifizierungsmethode, die modifizierte konventionelle, fluorogene und chromogene Substrate verwendet. Es dient zur Identifizierung häufig isolierter aerober grampositiver Bakterien aus klinischen Proben.^{1,2,13,16}

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Bereits im Jahr 1918 wurde über Mikromethoden zur biochemischen Identifizierung von Mikroorganismen berichtet.³ Mehrere Veröffentlichungen berichteten über die Verwendung von reagenzien-impregnierten Papierplättchen und Mikroröhrchen zur Differenzierung von Enterobakterien.^{3,4,7,17,19} Das Interesse an miniaturisierten Identifizierungssystemen führte zur Einführung mehrerer kommerzieller Systeme Ende der 60er Jahre; ihre Vorteile waren ihr geringer Platzbedarf, längere Haltbarkeit, standardisierte Qualitätskontrolle und einfache Handhabung.

Im allgemeinen sind viele der in den **BD BBL Crystal** ID-Systemen verwendeten Tests Modifizierungen klassischer Methoden. Darunter befinden sich Tests zum Nachweis von Gärung, Oxydation, Abbau und Hydrolyse verschiedener Substrate. Außerdem gibt es, wie im **BD BBL Crystal** GP-ID-Panel, chromogen- und fluorogengebundene Substrate zum Nachweis von Enzymen, die von Mikroorganismen zur Metabolisierung verschiedener Substrate verwendet werden.^{5,7,8,9,11,12,14,15}

Der **BD BBL Crystal** GP-ID-Kit besteht aus (i) Deckeln für die **BD BBL Crystal** GP-ID-Panels, (ii) **BD BBL Crystal** Untersätzen und (iii) Röhrchen mit **BD BBL Crystal** ANR, GP, RGP, N/H ID-Inokulationsflüssigkeit (IF). Der Deckel enthält 29 dehydrierte Substrate und eine Fluoreszenzkontrolle auf den Spitzen von Plastikzapfen. Der Untersatz besitzt 30 Reaktionsvertiefungen. Das Test-Inokulum wird mit der Inokulationsflüssigkeit zubereitet und in alle 30 Vertiefungen des Untersatzes gefüllt. Wenn der Deckel mit dem Untersatz ausgerichtet und eingerastet wird, rehydriert das Test-Inokulum die getrockneten Substrate und leitet die Testreaktion ein.

Nach der Inkubationszeit werden die Vertiefungen auf Farbumschläge und Fluoreszenz untersucht, die durch metabolische Aktivität der Mikroorganismen entstehen. Das sich ergebende Muster der 29 Reaktionen wird in eine zehnziffrige Profilnummer umgewandelt, die als Basis für die Identifizierung dient.¹⁸ Biochemische und enzymatische Reaktionsmuster für die **29 BBL Crystal** GP-ID-Substrate für eine Vielzahl von Mikroorganismen sind in der **BD BBL Crystal** GP-ID-Datenbank gespeichert. Die Identifizierung erfolgt durch eine Vergleichsanalyse vom Reaktionsmuster des Testisolats mit den in der Datenbank gespeicherten Reaktionsmustern. Eine vollständige Liste der Taxa, die in der derzeitigen Datenbank gespeichert sind, befindet sich in Tabelle 1.

VERFAHRENSPRINZIP

Die **BD BBL Crystal** GP-ID-Panels enthalten 29 getrocknete biochemische und enzymatische Substrate. Zur Rehydrierung der Substrate dient eine Bakteriensuspension in der Inokulationsflüssigkeit. Die im Identifizierungssystem verwendeten Tests basieren auf mikrobieller Nutzung und mikrobiellem Abbau spezifischer Substrate, die von verschiedenen Indikatorksystemen nachgewiesen werden. Enzymatische Hydrolyse von fluorogenen Substraten, die Cumarinderivate von 4-Methylum-Belliferon (4MU) oder 7-Amino-4-Methylcumarin (7-AMC) enthalten, führen zu intensiverer Fluoreszenz, die visuell leicht mit einer UV-Lampe nachgewiesen werden kann.^{11,12,14,15} Bei Hydrolyse produzieren chromogene Substrate Farbumschläge, die visuell nachgewiesen werden können. Zusätzlich sind andere Tests vorhanden, die Fähigkeit eines Organismus zur Hydrolyse, zum Abbau, zur Reduzierung oder zur anderen Nutzung eines Substrats in den **BD BBL Crystal** ID-Systemen.

Tabelle 2 enthält eine Beschreibung der von verschiedenen Substraten erzeugten Reaktionen sowie eine kurze Beschreibung der im System angewandten Prinzipien. "Panel-Position" in den genannten Tabellen gibt die Reihe und die Spalte der Vertiefung an (Beispiel: 1J bezieht sich auf Reihe 1 in Spalte J).

REAGENZIE

Das **BD BBL Crystal** GP-ID-Panel enthält 29 enzymatische und biochemische Substrate. Die reaktiven Bestandteile sind in Tabelle 3 aufgeführt.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen:

In-Vitro-Diagnostikum.

Nach Verwendung müssen alle infektiösen Materialien einschließlich Platten, Wattetupfern, Inokulationsflüssigkeit-Röhrchen, und Panels vor dem Verwerfen oder Verbrennen autoklaviert werden.

AUFBEWAHRUNG UND HANDHABUNG/HALTBARKEIT

Deckel: Die Deckel sind individuell verpackt und müssen ungeöffnet bei 2–8 °C kühl aufbewahrt werden. Nicht einfrieren. Die Packung visuell auf Löcher oder Risse der Folienverpackung überprüfen. Nicht verwenden, falls die Verpackung beschädigt ist. In der Originalpackung gemäß den Empfehlungen aufbewahrt werden bis zum Verfallsdatum reaktiv.

Untersätze: Die Untersätze sind in zwei Sätzen zu je zehn in **BD BBL Crystal** Inkubationsschalen verpackt. Die Untersätze sind mit dem Boden nach oben gestapelt, um Luftkontamination zu minimieren. Bis zur Durchführung des Tests in einer staubfreien Umgebung bei 2–30 °C aufbewahren. Die nicht verwendeten, sich in der Schale befindenden Untersätze in der Plastikhülle aufbewahren. Leere Schalen sind zum Inkubieren der inokulierten Panels zu verwenden.

Inokulationsflüssigkeit: **BD BBL Crystal** ANR, GP, RGP, N/H ID-IF ist in zwei Sätzen zu je zehn Röhrchen verpackt. Die Röhrchen visuell auf Sprünge, undichte Stellen, etc. untersuchen. Nicht verwenden, falls undichte Stellen, Beschädigung des Röhrchens oder der Kappe oder sichtbare Anzeichen von Kontamination (d.h. Schleier, Trübung) vorhanden sind. Die Röhrchen bei 2–25 °C aufbewahren. Das Verfallsdatum ist auf dem Etikett des Röhrchens angegeben. Es sollte ausschließlich **BD BBL Crystal** ANR, GP, RGP, N/H Inokulationsflüssigkeit mit den **BD BBL Crystal** GP-ID-Panels verwendet werden.

BD BBL Crystal GP-ID-Kit nach Erhalt bei 2–8 °C aufbewahren. Nach dem Öffnen der Packung müssen nur die Deckel bei 2–8 °C aufbewahrt werden. Die übrigen Komponenten des Kits können bei 2–25 °C aufbewahrt werden. Falls der Kit oder eine der Komponenten im Kühlschrank aufbewahrt wird, sollten sie vor dem Gebrauch auf Raumtemperatur gebracht werden.

PROBENTENAHME UND VERARBEITUNG

BD BBL Crystal ID-Systeme sind nicht zur direkten Verwendung mit klinischen Proben geeignet. Isolate müssen auf Medien wie z.B. **Trypticase**-Soja-Agar mit 5 % Schafblut (TSA II) oder Columbia-Agar mit 5 % Schafblut (Columbia) gewachsen sein. Selektive Medien wie z.B. Phenylethylalkoholagar mit 5 % Schafblut (PEA) oder Columbia CNA-Agar mit 5 % Schafblut (CNA) können auch verwendet werden. Medien, die Eskulin enthalten, sind nicht zu verwenden. Das Testisolat muß für die meisten Arten eine höchstens 18–24 h alte Reinkultur sein; für einige langsam wachsende Organismen können auch bis zu 48 h alte Kulturen verwendet werden. Wenn zur Vorbereitung der Inokulations Suspensionen. Tupfer verwendet werden, sollten ausschließlich Applikatoren mit Baumwollspitze benutzt werden. Einige Polyester tupfer können bei der Beimpfung der Panels Probleme verursachen. (s. "Verfahrensbeschränkungen".) Um exakte Ergebnisse zu erlangen, müssen die Deckel nach der Entnahme aus den verschlossenen Beuteln innerhalb 1 h verwendet werden. Der Plastikschutz sollte bis zur Verwendung auf dem Deckel bleiben.

Der verwendete Inkubator sollte feuchte Luft enthalten, um die Verdunstung von Flüssigkeit aus den Vertiefungen während der Inkubation zu vermeiden. Die empfohlene Luftfeuchtigkeit beträgt 40–60 %. Die Zweckdienlichkeit der **BD BBL Crystal** ID-Systeme oder jedes anderen diagnostischen Verfahrens, das auf klinische Proben angewendet wird, ist direkt von der Probenqualität selbst abhängig. Laboratorien wird nachdrücklich empfohlen, die im *Manual of Clinical Microbiology* erörterten Methoden zur Probenentnahme, zum Transport und zur Beimpfung primärer Isolierungsmedien anzuwenden.^{1,16}

Testverfahren

Mittelgeliefertes Arbeitsmaterial: BD BBL Crystal GP-ID-Kit –

20 Deckel für die **BD BBL Crystal** GP-ID-Panels,

20 **BD BBL Crystal** Untersätze,

20 Röhren mit **BD BBL Crystal** ANR, GP, RGP, N/H ID-IF. Jedes Röhren enthält etwa $2,3 \pm 0,15$ mL Inokulumflüssigkeit folgender Zusammensetzung: KCl 7,5 g, CaCl_2 0,5 g, Tricin N-[2-Hydroxy-1, 1-bis (Hydroxymethyl) Methyl] Glycin 0,895 g, destilliertes Wasser auf 1000 mL.

2 Inkubationsschalen,

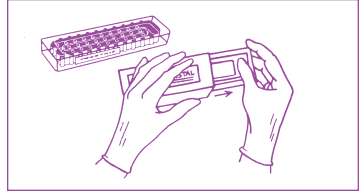
1 Berichtsbogen für das **BD BBL Crystal** GP-ID-System.

Benötigtes, jedoch nicht mittelgeliefertes Arbeitsmaterial: Sterile Baumwolltupfer (*keine Polyester tupfer verwenden*), Inkubator ($35\text{--}37^\circ\text{C}$), CO_2 -frei ($40\text{--}60\%$ Luftfeuchtigkeit), McFarland Standard Nr. 0,5, **BD BBL Crystal** Panel-Betrachter, Elektronisches Codebuch für das **BD BBL Crystal** ID-System oder **BD BBL Crystal** GP Manuelles Codebuch, und geeignete Kulturmedien.

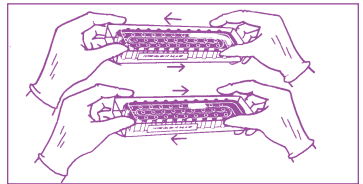
Ferner werden die zur Vorbereitung, Lagerung und Verarbeitung der Blutproben verwendeten Geräte und Laborutensilien benötigt.

Testverfahren: Für das **BD BBL Crystal** GP-ID-System wird das Ergebnis einer Gram-Färbung benötigt.

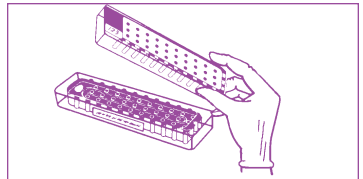
1. Deckel aus der Hülle nehmen. Trockenmittel verwerfen. Die geschützten Deckel sollten innerhalb 1 h nach Entnahme aus der Hülle verwendet werden. Panel nicht verwenden, wenn sich kein Trockenmittel in der Hülle befindet.
2. Ein Röhren mit Inokulumflüssigkeit mit der Nummer der Patientenprobe beschriften. Unter Anwendung aseptischer Arbeitsweise, mehrere morphologisch gleiche Kolonien mit der Spitze eines sterilen Baumwolltupfers (*keine Polyester-Tupfer verwenden*), einem hölzernen Applikatorstäbchen oder einer Einwegplastiköse von einem der empfohlenen Medien (siehe Abschnitt "Probenentnahme und Verarbeitung") entnehmen.
3. Kolonien in einem Röhren mit **BD BBL Crystal** ANR, GP, RGP, N/H ID-Inokulumflüssigkeit suspendieren.
4. Röhren wieder verschließen und etwa 10–15 s. homogenisieren. Die Trübung sollte einem McFarland Standard Nr. 0,5 entsprechen. Falls die Konzentration der Inokulumssuspension während der Zubereitung den McFarland Standard überschreitet, wird eine der folgenden Maßnahmen empfohlen:
 - a. Mittels eines frischen Röhrens Inokulumflüssigkeit, eine neue Inokulumssuspension entsprechend dem McFarland Standard Nr. 0,5 zubereiten.
 - b. Falls keine weiteren Kolonien für die Zubereitung einer neuen Inokulumssuspension zur Verfügung stehen, unter Anwendung aseptischer Arbeitsweise das Inokulum durch Zugabe des benötigten Mindestvolumens (höchstens 1,0 mL) von 0,85% iger steriler Salzlösung oder Inokulumflüssigkeit verdünnen, um die Trübung auf einen McFarland Standard Nr. 0,5 entsprechenden Wert zu reduzieren. Die dem Röhren zugesetzte, zusätzliche Flüssigkeitsmenge mit einer sterilen Pipette entfernen, so daß das Endvolumen der Inokulumflüssigkeit etwa dem Originalvolumen des Röhrens ($2,3 \pm 0,15$ mL) entspricht. Wird das Volumen auf diese Weise nicht reduziert, fließt die Inokulumssuspension über den schwarzen Teil des Untersatzes, wodurch das Panel unbrauchbar wird.
5. Einen Untersatz nehmen und die Nummer der Patientenprobe auf die Seitenwand schreiben.
6. Den ganzen Inhalt des Inokulumflüssigkeit-Röhrens in das dafür vorgesehene Reservoir des Untersatzes füllen.



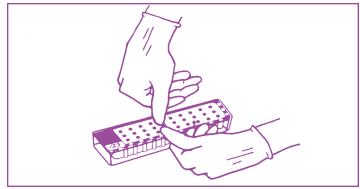
7. Untersatz mit beiden Händen halten und das Inokulum vorsichtig entlang der Laufspur fließen lassen, bis alle Vertiefungen gefüllt sind. Überschüssige Flüssigkeit *zurück* in das Reservoir fließen lassen und den Untersatz auf den Labortisch stellen.



8. Den Deckel so ausrichten, daß sich die Etikettenseite des Deckels über dem Reservoir des Untersatzes befindet.



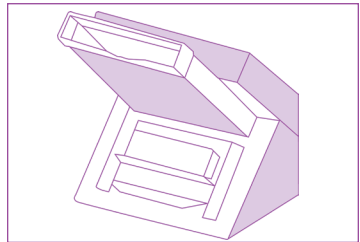
9. Niederdrücken, bis ein leichter Widerstand zu fühlen ist. Mit den Daumen auf beiden Seiten am Rand des Deckels etwa in der Panel-Mitte gleichzeitig niederdrücken, bis der Deckel einrastet (es sind zwei "Klicks" zu hören).



Reinkultur: Zur Durchführung einer Reinheitsprüfung entweder vor oder nach Beimpfen des Untersatzes mit einer sterilen Öse einen kleinen Tropfen vom Inokulumflüssigkeit-Röhrchen entnehmen und damit einen Schrägagar oder eine Agarplatte (jegliches geeignete Medium) beimpfen. Das Inokulumflüssigkeit-Röhrchen einschließlich der Kappe in einen Behälter für biologisch gefährlichen Abfall werfen. Den Schrägagar oder die Agarplatte 24–48 h bei 35–37 °C unter geeigneten Bedingungen bebrüten. Die Agarplatte oder der Schrägagar können, falls erwünscht, ebenso für zusätzliche Tests oder für die Serologie verwendet werden.



Inkubation: Die beimpften Panels in Inkubationsschalen stellen. Zehn Panels passen in eine Schale (5 Reihen à 2 Panels). Alle Panels sollten **umgekehrt** (größere Fenster nach oben; Etikett nach unten) in einem CO₂-freien Inkubator mit 40–60 % **Luftfeuchtigkeit** inkubiert werden. Zur Inkubation sollten nicht mehr als 2 Schalen aufeinander gestapelt werden. Die Inkubationszeit für Panels beträgt 18–24 h bei 35–37 °C. Werden die Panels 24 h lang inkubiert, sollten sie nach Herausnahme aus dem Inkubator innerhalb von 30 min abgelesen werden.



Ablesen: Nach der empfohlenen Inkubationszeit die Panels aus dem Inkubator nehmen. Alle Panels sollten **umgekehrt** (größere Fenster nach oben; Etikett nach unten) mit Hilfe des **BD BBL Crystal** Panel-Betrachters abgelesen werden. Zur Interpretation der Reaktionen die Farbreaktionstabelle bzw. Tabelle 3 heranziehen und die Reaktionen auf dem **BD BBL Crystal** GP Berichtsbogen eintragen. Die Panelbestimmung kann auch mit dem **BBL Crystal** AutoReader durchgeführt werden.

- Spalten E bis J zuerst mit der regulären (weißes Licht) Lampe ablesen.
- Spalten A bis D (fluoreszierende Substrate) mit der UV-Lampe im Panel-Betrachter ablesen. Eine Vertiefung mit fluoreszierendem Substrat gilt *nur* dann als positiv, *wenn* die Fluoreszenz in der Vertiefung *stärker* ist, als die in der Vertiefung mit der negativen Kontrolle (4A).

Errechnen der BD BBL Crystal Profilnummer: Jedem positiven Testergebnis (außer 4A, der fluoreszierenden negativen Kontrolle) wird entsprechend der Reihe, in der sich der Test befindet, ein Wert von 4, 2 oder 1 zugeordnet. Jedes negative Ergebnis erhält einen Wert von 0 (Null). Die Werte von jedem positiven Ergebnis in jeder Reihe werden dann addiert. Daraus ergibt sich eine zehnstellige Zahl: die Profilnummer.

Beispiel:	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4	*	+	–	–	+	+	+	–	+	–
2	–	+	+	+	–	+	–	+	+	–
1	+	–	+	–	+	–	–	+	+	–
Profil	1	6	3	2	5	6	4	3	7	0

*(4A) = fluoreszierende negative Kontrolle

Um eine Identifizierung zu erhalten, müssen die entstandene Profilnummer und zelluläre Morphologie, in einen Computer eingegeben werden, in dem das **BD BBL Crystal** Mind-Software installiert wurde. Ein manuelles Codebuch ist ebenfalls erhältlich. Falls kein Computer zur Verfügung steht, leistet der Technische Kundendienst von BD Diagnostics Hilfestellung bei der Identifizierung. Bei Anwendung des **BD BBL Crystal** AutoReader werden die Organismen automatisch vom PC identifiziert.

Qualitätskontrolle durch den Anwender: Folgende Qualitätskontrolle wird für jede Charge von Panels empfohlen:

- Gemäß empfohlenem Verfahren (s. "Testverfahren") ein Panel mit *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 beschicken.
- Das Panel 18–20 h bei 35–37 °C inkubieren.
- Panel mit dem Panel-Betrachter und der Farbreaktionstabelle ablesen; Reaktionen auf dem Berichtsbogen eintragen. Das Panel kann auch mit dem **BD BBL Crystal** AutoReader bestimmt werden.
- Die aufgezeichneten Reaktionen mit den Reaktionen in Tabelle 4 vergleichen. Falls abweichende Resultate erzielt wurden, vor Kontaktaufnahme mit dem Technischen Kundendienst von BD Diagnostics die Reinheit des Qualitätskontrollstamms bestätigen.

Erwartete Testergebnisse für zusätzliche Qualitätskontroll-Teststämme sind in Tabelle 5 aufgeführt.

Es sind die geltenden gesetzlichen und behördlichen und in den Akkreditierungsbedingungen festgelegten Vorschriften zur Qualitätskontrolle sowie die laborinternen Standardvorgaben zur Qualitätskontrolle zu beachten. Benutzer sollten die relevanten CLSI-Dokumente und CLIA-Vorschriften über geeignete Testverfahren zur Qualitätskontrolle einsehen.

VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Das **BD BBL Crystal** GP-ID-System ist für die angegebenen Taxa vorgesehen. Mit diesem System sollten ausschließlich in Tabelle 1 aufgelistete Taxa verwendet werden.

Die **BD BBL Crystal** GP-ID-Datenbank wurde mit Medien der Marke **BBL** entwickelt. Die Reaktivität einiger Substrate in miniaturisierten Nachweissystemen kann vom Medium, welches ursprünglich bei der Zubereitung des Inokulums verwendet wurde, abhängen. Zur Verwendung mit dem **BD BBL Crystal** GP-ID-System empfehlen wir die folgenden Medien: TSA II und Columbia-Blutagar. Selektive Medien wie z.B. PEA oder CNA können auch verwendet werden. Medien, die Eskulin enthalten, sind nicht zu verwenden.

BD BBL Crystal Identifizierungssysteme verwenden eine modifizierte Mikroumgebung; daher können die Erwartungswerte individueller Tests von zuvor mit konventionellen Testreaktionen nachgewiesenen Werten abweichen. Die Genauigkeit des **BD BBL Crystal** GP-ID-Systems beruht auf der statistischen Verwendung speziell entworfener Tests und einer exklusiven Datenbank. Auch wenn das **BD BBL Crystal** GP-ID-System bei der Differenzierung von Mikroben hilfreich ist, sollte berücksichtigt werden, daß in Stämmen innerhalb der Spezies geringe Variationen auftreten können. Nur ein kompetenter Mikrobiologe sollte die Panels verwenden und die Ergebnisse interpretieren. Bei der entgeltlichen Identifizierung der Isolate sollten einige Faktoren in Betracht gezogen werden: die Herkunft der Probe, die Aerotoleranz, die Zellmorphologie, Kolonien-Charakteristika auf verschiedenen Medien sowie die durch Gas-Flüssigkeits-Chromatographie bestimmten metabolische Endprodukte.

Während die Mehrzahl der *Enterococcus faecium*-Isolate im **BD BBL Crystal** GP-System korrekt identifiziert wird, verursachen einige Vancomycin-resistente *Enterococcus faecium*-Stämme atypische Substratreaktionen und können dadurch als *Enterococcus durans* oder, in seltenen Fällen, als *Helcococcus kunzii* identifiziert werden. Deshalb ist es empfehlenswert, einen Bestätigungstest durchzuführen, wenn einer dieser Organismen nachgewiesen wird.

Zur Vorbereitung der Inokulumssuspension sollten ausschließlich Tupfer mit Baumwollspitze verwendet werden, da einige Poly-esterputer das Inokulum zähflüssig machen können. Dies wiederum kann dazu führen, daß nicht genügend Inokulum vorhanden ist, um die Vertiefungen zu füllen. Um exakte Ergebnisse zu erlangen, müssen die Deckel nach der Entnahme aus den verschlossenen Beuteln innerhalb 1 h verwendet werden. Der Plastikschutz sollte bis zur Verwendung auf dem Deckel bleiben.

Der Inkubator, in den die Panels gestellt werden, sollte feuchte Luft enthalten, um die Verdunstung von Inokulumflüssigkeit aus den Vertiefungen während der Inkubation zu vermeiden. Die empfohlene Luftfeuchtigkeit beträgt 40–60 %.

Die Panels sollten nach der Beimpfung nur **umgekehrt** inkubiert werden (die größeren Fenster nach oben; das Etikett nach unten zeigend) um die Wirksamkeit der Substrate zu maximieren.

Wenn das **BD BBL Crystal** Testprofil das Ergebnis "Keine Identifizierung" liefert und die Reinheit der Kultur bestätigt wurde, dann besteht die Wahrscheinlichkeit, daß (i) das Testisolat *atypische BD BBL Crystal Reaktionen* erzeugt (deren Ursache auch falsche Verfahrensweisen sein können), (ii) die Test-Spezies nicht Teil der festgelegten Taxa ist oder (iii) daß das Testsystem das Testisolat nicht mit der erforderlichen Verläßlichkeit identifizieren kann. Wenn Fehler seitens des Anwenders ausgeschlossen wurden, wird die Verwendung von konventionellen Methoden empfohlen.

LEISTUNGSMERKMALE

Reproduzierbarkeit: In einer externen Studie an vier klinischen Labors (Summe aus vier Auswertungen) wurde die Reproduzierbarkeit der Reaktionen des **BD BBL Crystal** GP-ID-Substrats (29) in Wiederholungstests untersucht. Die Reproduzierbarkeit der einzelnen Substrate betrug zwischen 79,2 % und 100 %. Insgesamt lag die Reproduzierbarkeit des **BD BBL Crystal** GP-ID-Panels bei 96,7 %.²⁰

Genauigkeit der Identifizierung: Die Leistung des **BD BBL Crystal** GP-ID-Systems wurde unter **Verwendung klinischer Isolate und Stammkulturen** mit derzeit im Handel erhältlichen Systemen verglichen. Insgesamt wurden vier Studien an vier unabhängigen Laboratorien durchgeführt. Zur Erstellung der Leistungsmerkmale wurden sowohl frische, im klinischen Labor routinemäßig ankommende Isolate als auch zuvor identifizierte, von dem Testlabor ausgewählte Isolate verwendet.

Von den 735 Isolaten, die in den Studien untersucht wurden, lieferte das **BD BBL Crystal** GP-Identifizierungssystem 668 (90,9 %) richtige Ergebnisse (einschließlich Isolate, die zusätzliche Tests benötigen). 56 (7,6 %) der Isolate wurden nicht richtig identifiziert, und bei 11 (1,5 %) Isolaten erschien die Meldung "Keine Identifizierung".²⁰

LIEFERBARE PRODUKTE

Best.-Nr.	Beschreibung	Best.-Nr.	Beschreibung
245140	BD BBL Crystal GP Gram-Positive ID System, 1 Kit.	221165	BD BBL Columbia-Agar mit 5 % Schafblut, Packung mit 20.
245038	BD BBL Crystal ANR, GP, RGP, N/H ID Inoculum Fluid (ID-Inokulumflüssigkeit).	221263	BD BBL Columbia-Agar mit 5 % Schafblut, Karton mit 100.
245031	BD BBL Crystal Panel-Betrachter, USA-Modell, 110 V, 60 Hz.	221352	BD BBL Columbia CNA Agar mit 5 % Schafblut, Packung mit 20.
245032	BD BBL Crystal Panel-Betrachter, Europäisches Modell, 220 V, 50 Hz.	221353	BD BBL Columbia CNA Agar mit 5 % Schafblut, Karton mit 100.
245033	BD BBL Crystal Panel-Betrachter, Japanisches Modell, 100 V, 50/60 Hz.	221179	BD BBL Phenylethylalkoholagar mit 5 % Schafblut, Packung mit 20.
245034	Langwellen-UV-Leuchtröhre für den BD BBL Crystal Panel-Betrachter.	221277	BD BBL Phenylethylalkoholagar mit 5 % Schafblut, Karton mit 100.
245036	Weißlicht-Leuchtröhre für den BD BBL Crystal Panel-Betrachter.	221239	BD BBL Trypticase -Soja-Agar mit 5 % Schafblut (TSA II), Packung mit 20.
245037	Manuelles Codebuch für das BD BBL Crystal Testsystem zur Identifizierung von grampositiven Bakterien.	221261	BD BBL Trypticase -Soja-Agar mit 5 % Schafblut (TSA II), Karton mit 100.
441010	BD BBL Crystal Mind-Software	212539	BD BBL Gram-Färbungs-Kit, Packung mit 4 x 250-mL Flaschen.

LITERATURNACHWEIS: S. "References" im englischen Text.

BD Diagnostics Technischer Kundendienst: setzen Sie sich mit Ihrer zuständigen BD-Vertretung oder www.bd.com/ds.

BD Sistemi d'identificazione BBL Crystal **Kit per l'identificazione di batteri gram-positivi**

Italiano

USO PREVISTO

Il sistema **BD BBL Crystal** d'identificazione (ID) Gram-Positive (GP) è un metodo d'identificazione miniaturizzato che utilizza substrati convenzionali fluorogenici e cromogenici modificati. Il suo uso è previsto per l'identificazione di batteri gram-positivi aerobi frequentemente isolati da campioni clinici.^{1,2,13,16}

SOMMARIO E SPIEGAZIONE

I micrometodi per l'identificazione biochimica di microrganismi risalgono al 1918.³ Molte pubblicazioni hanno fatto riferimento all'uso dei metodi dei dischi di carta impregnati di reagenti e della micro-provetta per la differenziazione degli enterobatteri.^{3,4,7,17,19} L'interesse per i sistemi d'identificazione miniaturizzati ha portato all'introduzione di diversi sistemi per uso commerciale verso la fine degli anni sessanta. Essi si dimostrarono estremamente convenienti grazie al limitato spazio richiesto e la lunga durata di conservazione, nonché per la standardizzazione del controllo di qualità e il loro facile impiego.

In genere, molti dei test impiegati dai sistemi **BD BBL Crystal** ID non sono altro che modifiche di sistemi classici, e comprendono test di fermentazione, ossidazione, degradazione ed idrolisi di vari substrati. In aggiunta a ciò, il collegamento di alcuni substrati a cromogeni, come nel caso del pannello **BD BBL Crystal** GP ID, consente la rivelazione di enzimi utilizzati dai microbi per la metabolizzazione di vari substrati.^{5,7,8,9,11,12,14,15}

Il kit **BD BBL Crystal** GP ID comprende (i) coperchi per pannelli **BD BBL Crystal** GP ID, (ii) basi **BD BBL Crystal** e (iii) provette **BD BBL Crystal** ANR, GP, RGP, N/H ID di fluido d'inoculo (FI). Il coperchio contiene 29 substrati disidratati ed un controllo di fluorescenza posti sulle estremità di puntali di plastica. La base è dotata di 30 pozzetti di reazione. L'inoculo del test viene preparato con il fluido d'inoculo e viene impiegato per il riempimento di tutti e 30 i pozzetti. Quando il coperchio è allineato al pannello, esso scatta in posizione e l'inoculo del test reidrata i substrati dando inizio alle reazioni dei test.

In seguito ad un periodo di incubazione, i pozzetti vengono esaminati per rilevare eventuali cambiamenti di colore o presenza di fluorescenza, che sono indice di attività metaboliche dei microrganismi. Lo schema risultante dalle 29 reazioni viene poi convertito in un numero di profilo a dieci cifre, che costituisce la base sulla quale poter procedere poi all'identificazione.¹⁸ Gli schermi delle reazioni biochimiche ed enzimatiche per i 29 substrati del sistema **BD BBL Crystal** GP ID per un'ampia varietà di microrganismi sono memorizzati nel 'database' **BD BBL Crystal** GP ID. L'identificazione deriva appunto dall'analisi comparativa del pattern di reazioni dell'isolato testato con quelle contenute nel 'database'. Si fornisce un elenco completo di unità tassonomiche comprendente il 'database' attuale nella Tabella 1.

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

I pannelli **BD BBL Crystal** GP ID contengono 29 substrati biochimici ed enzimatici disidratati. Per la reidratazione dei substrati viene utilizzata la sospensione batterica nel fluido d'inoculo. I test utilizzati dal sistema si basano sull'utilizzazione e la degradazione microbica di substrati specifici rivelati da vari sistemi indicatori. L'idrolisi enzimatica dei substrati fluorogenici contenenti derivati cumarinici del 4-metil-umbelliferone (4MU) o del 7-amino-4-metilcumarina (7-AMC), dà luogo ad uno sviluppo di fluorescenza facilmente visibile ad occhio nudo con una lampada a UV.^{11,12,14,15} I substrati cromogenici sottoposti ad idrolisi producono cambiamenti di colore visibili ad occhio nudo. Inoltre, vi sono altri test che rivelano la capacità di un organismo di idrolizzare, degradare, ridurre o utilizzare in altro modo un substrato dei sistemi **BD BBL Crystal** ID.

Le reazioni impiegate da vari substrati e una breve spiegazione dei principi utilizzati dal sistema di identificazione sono descritte nella Tabella 2. La posizione nel pannello sulle tabelle riportate indica la fila e la colonna in cui si trova il pozzetto (ad esempio: 1J si riferisce alla fila 1 nella colonna J).

REAGENTI

Il pannello **BD BBL Crystal** GP ID contiene 29 substrati enzimatici e biochimici. Far riferimento alla Tabella 3 per l'elenco degli ingredienti attivi.

Avvertenze e precauzioni:

Per uso diagnostico *in vitro*.

Dopo l'uso, tutti i materiali infetti comprese le piastre, i tamponi di cotone, le provette di fluido per l'inoculo e i pannelli vanno sterilizzati in autoclave prima della loro eliminazione o incenerimento.

CONSERVAZIONE E MANIPOLAZIONE/DURATA DI CONSERVAZIONE

Coperchi: I coperchi sono imballati individualmente e vanno conservati, nel loro imballaggio intatto, in frigorifero ad una temperatura di 2–8 °C. NON CONGELARE. Ispezionare visivamente l'imballaggio per controllare che la confezione in carta foil non presenti fori o crepe. Non utilizzare qualora l'imballaggio dovesse apparire danneggiato. I coperchi, nel loro imballaggio originale, manterranno la reattività prevista fino alla data di scadenza se conservati secondo le indicazioni.

Basi: Le basi sono imballate in due set da dieci in un vassoio di incubazione **BD BBL Crystal**. Le basi sono sovrapposte con la parte superiore rivolta verso il basso, in modo da minimizzare la contaminazione dall'aria. Conservare in ambiente privo di polvere ad una temperatura di 2–30 °C, fino al momento dell'uso. Le basi non utilizzate vanno conservate nei vassoi, dentro un sacchetto di plastica. I vassoi vuoti vanno utilizzati per l'incubazione dei pannelli inoculati.

Fluido d'inoculo: Il fluido d'inoculo (FI) **BD BBL Crystal** ANR, GP, RGP, N/H ID è imballato in due set di dieci provette. Ispezionare visivamente le provette per controllare che non presentino crepe, perdite, ecc. Non utilizzare in presenza di perdite, danni alla provetta o al coperchio o contaminazione visibile ad occhio nudo (ad es. nebulosità, torbità). Conservare le provette a una temperatura di 2–25 °C. La data di scadenza è stampata sull'etichetta della provetta. Solo il fluido d'inoculo **BD BBL Crystal** ANR, GP, RGP, N/H deve essere usato con i pannelli **BD BBL Crystal** GP ID.

Al ricevimento, conservare il kit **BD BBL Crystal GP ID** a una temperatura di 2–8 °C. Una volta aperto l'imballaggio, soltanto i coperchi vanno conservati a 2–8 °C. Il resto dei componenti del kit può essere conservato a 2–25 °C. Il kit o alcuni suoi componenti devono essere portati a temperatura ambiente prima dell'uso, se conservati in frigorifero.

RACCOLTA E TRATTAMENTO DEI CAMPIONI

Per i sistemi **BD BBL Crystal ID non** è previsto l'uso diretto dei campioni clinici. Usare isolati provenienti da terreni come l'agar soia **Trypticase** con sangue di montone al 5% (TSA II) o l'agar Columbia con sangue di montone al 5% (Columbia). Sono accettabili anche terreni selettivi come l'agar alcol feniltilico con sangue di montone al 5% (PEA) o l'agar Columbia CNA con sangue di montone al 5% (CNA). Non vanno usati i terreni contenenti esculina. L'isolato deve derivare da una coltura pura che non abbia più di 18–24 h di vita per quasi tutti i generi; solo per alcuni organismi a sviluppo lento si possono accettare colture fino a 48 h di vita. Quando vengono usati tamponi per preparare le sospensioni dell'inoculo, occorre utilizzare esclusivamente applicatori con punta in cotone, in quanto quelli realizzati in poliestere potrebbero creare problemi per l'inoculo nei pannelli (vedere "Limitazioni della Procedura"). Una volta rimossi dai sacchetti sigillati, i coperchi devono essere usati entro 1 h per assicurare una performance adeguata. Tenere la copertina antipolvere sul coperchio fino al momento dell'uso.

L'incubatore deve essere umidificato per impedire l'evaporazione del fluido dai pozzetti durante l'incubazione. Il livello di umidità raccomandato è del 40–60%. L'utilità dei sistemi **BD BBL Crystal ID** o di qualunque altra procedura diagnostica effettuata su campioni clinici dipende dalla qualità dei campioni stessi. Ai laboratori si raccomanda particolarmente di seguire i metodi trattati nel *Manual of Clinical Microbiology* per la raccolta, il trasporto e la semina dei campioni su terreni di coltura per l'isolamento primario.^{1,16}

PROCEDURA DEL TEST

Materiali forniti: kit **BD BBL Crystal GP ID** –

20 coperchi per pannelli **BD BBL Crystal GP ID**,

20 basi **BD BBL Crystal**,

20 provette di fluido d'inoculo **BD BBL Crystal ANR, GP, RGP, N/H ID**. Ogni provetta contiene circa $2,3 \pm 0,15$ mL di fluido d'inoculo con la seguente formula: KCl 7,5 g, CaCl₂ 0,5 g, Tricina N-[2-idrossi-1, 1-bis (idrossimetil)metil] glicina 0,895 g, acqua purificata fino a 1000 mL.

2 vassoi per incubazione,

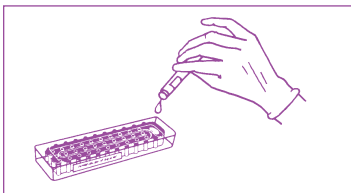
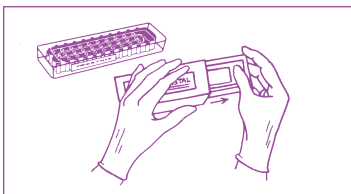
1 blocchetto per referti **BD BBL Crystal GP ID**.

Materiali richiesti ma non forniti: tamponi sterili con punta in cotone (*non usare tamponi in poliestere*), incubatore (35–37 °C) senza CO₂ (umidità 40–60%), standard McFarland N° 0,5, visore per pannelli **BD BBL Crystal**, Libro elettronico dei codici per i sistemi **BD BBL Crystal ID** o Manuale dei codici **BD BBL Crystal GP** e terreni di coltura idonei.

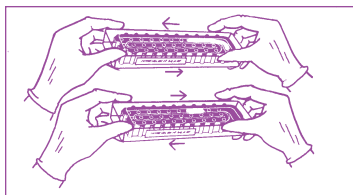
Sono inoltre richiesti gli strumenti di laboratorio necessari per la preparazione, conservazione e manipolazione di campioni clinici.

Procedura del test: Il sistema **BD BBL Crystal GP ID** richiede una colorazione di Gram.

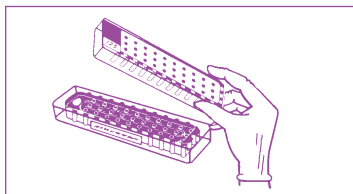
1. Rimuovere i coperchi dal sacchetto. Eliminare l'essiccante. Una volta rimossi dal sacchetto, i coperchi, protetti dalla copertina antipolvere, vanno adoperati nel giro di 1 h. Non usare il pannello se non c'è essiccante nel sacchetto.
2. Prelevare una provetta di fluido d'inoculo e contrassegnarla con il numero di campione del paziente. Usando una tecnica asettica, con la punta di un tampone sterile in cotone (*non usare tamponi in poliestere*) o di un applicatore in legno o un'ansa monouso in plastica, prelevare colonie della stessa morfologia da uno dei terreni raccomandati (vedere la sezione "Raccolta e trattamento dei campioni").
3. Sospendere le colonie in una provetta di fluido d'inoculo **BD BBL Crystal ANR, GP, RGP, N/H ID**.
4. Richiudere con l'apposito coperchio e vortexare per circa 10–15 s. La torbidità dovrebbe equivalere allo standard McFarland N° 0,5. Qualora la concentrazione della sospensione d'inoculo dovesse superare quello standard McFarland, si raccomanda di seguire una delle seguenti operazioni:
 - a. Usare una provetta nuova di fluido d'inoculo per preparare una nuova sospensione d'inoculo equivalente allo standard McFarland N° 0,5.
 - b. Se non sono disponibili altre colonie per la preparazione di una nuova sospensione d'inoculo, con l'impiego di tecniche sterili diluire l'inoculo aggiungendo il minimo volume richiesto (non superando però 1,0 mL) di soluzione salina sterile allo 0,85%, o di fluido d'inoculo, in modo da ridurre la torbidità a un livello equivalente allo standard McFarland N° 0,5. Rimuovere la quantità in eccesso aggiunta alla provetta con una pipetta sterile, facendo in modo che il volume finale del fluido d'inoculo equivalga approssimativamente al volume originale della provetta ($2,3 \pm 0,15$ mL). La mancata effettuazione di tale aggiustamento del volume comporterà la fuoriuscita della sospensione d'inoculo sulla porzione nera della base, rendendo il pannello inutilizzabile.
5. Prelevare una base e annotare il numero di campione del paziente sulla parete laterale.
6. Versare nell'area segnata della base tutto il fluido d'inoculo contenuto nella provetta.



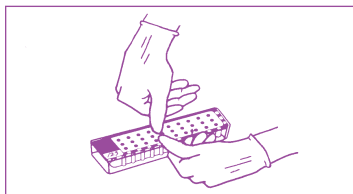
7. Tenere ferma la base con entrambe le mani e far avanzare delicatamente l'inoculo lungo i canali fino al riempimento di tutti i pozzetti. Far *ritornare* all'area segnata il fluido eccedente e collocare la base sopra un ripiano.



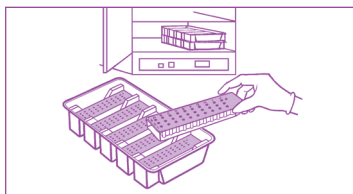
8. Allineare il coperchio in modo tale che l'estremità etichettata si trovi sopra l'area segnata della base.



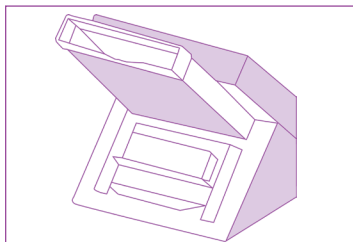
9. Premere verso il basso fino a quando non si avverta una lieve resistenza. Mettere i pollici sul bordo del coperchio, al centro del pannello e premere dai due lati verso il basso simultaneamente fino a quando il coperchio non scatti in posizione (si devono udire due "clac").



Piastra per il controllo della purezza: Usando un'ansa sterile, prelevare una piccola goccia dalla provetta di fluido d'inoculo prima o dopo l'inoculo del pannello, e inoculare una provetta a becco di clarino o una piastra di agar (qualunque terreno adatto) per il controllo della purezza. Eliminare la provetta del fluido d'inoculo e il coperchio in un contenitore per rifiuti a rischio biologico. Incubare la provetta o la piastra per 24–48 h a una temperatura di 35–37 °C in condizioni idonee. La piastra o la provetta a becco di clarino per il controllo della purezza possono essere impiegate anche per qualunque test sierologico supplementare, ove necessario.



Incubazione: Collocare i pannelli inoculati nei vassoi per incubazione. Dieci pannelli possono essere contenuti in un vassoio (5 file di 2 pannelli). Tutti i pannelli vanno incubati **capovolti** (le finestre più ampie rivolte verso l'alto; l'etichetta rivolta verso il basso) in incubatore senza CO₂ con **umidità** pari al 40–60%. Durante l'incubazione, occorre evitare di sovrapporre più di 2 vassoi. Per i pannelli il tempo di incubazione è di 18–24 h ad una temperatura di 35–37 °C. Se i pannelli vengono incubati per 24 h, una volta tolti dall'incubatore effettuare la lettura entro 30 min.



Letture: Trascorso il periodo di incubazione raccomandato, rimuovere i pannelli dall'incubatore. Tutti i pannelli vanno letti **capovolti** (le finestre più ampie rivolte verso l'alto; l'etichetta rivolta verso il basso) usando il visore per pannelli **BBL Crystal**. Per l'interpretazione delle reazioni far riferimento alla tavola sinottica dei colori delle reazioni e/o alla Tabella 3 (vedere pagg. 33–36). Registrare le reazioni sul blocchetto per referti **BD BBL Crystal GP**. In alternativa, per leggere i pannelli è possibile usare il lettore **BD BBL Crystal AutoReader**.

- Leggere le colonne da E a J, usando la lampada regolare (bianca).
- Leggere le colonne da A a D (substrati fluorescenti) usando la lampada a UV nel visore per pannelli. Un pozzetto di substrato fluorescente viene considerato positivo *solamente* se l'intensità della fluorescenza osservata nello stesso *supera* quella del pozzetto di controllo negativo (4A).

Calcolo del numero di profilo BD BBL Crystal : Ad ogni risultato di test (tranne 4A, che viene usato come un controllo negativo di fluorescenza) classificato positivo, viene attribuito un valore 4, 2, o 1, corrispondente alla fila nella quale il test si trova. Ai risultati negativi viene attribuito invece un valore 0 (zero). I valori che risultano da ogni reazione positiva in ciascuna colonna vengono poi sommati tra loro dando luogo ad un numero a 10 cifre: questo numero è appunto il numero di profilo.

Esempio:	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4	*	+	–	–	+	+	+	–	+	–
2	–	+	+	+	–	+	–	+	+	–
1	+	–	+	–	+	–	–	+	+	–
Profilo	1	6	3	2	5	6	4	3	7	0

* (4A) = controllo negativo di fluorescenza

Per acquisire l'identificazione, il numero del profilo ottenuto e la morfologia cellulare vanno inseriti in un PC in cui sia stato installato il software **BD BBL Crystal Mind**. È disponibile anche un manuale dei codici. Se non si ha a disposizione un PC, rivolgersi al Servizio Tecnico della BD Diagnostics, per assistenza circa l'identificazione. In caso di utilizzo del lettore **BD BBL Crystal AutoReader**, gli organismi vengono identificati automaticamente dal computer.

Controllo di qualità per l'analista: Si raccomanda l'effettuazione del controllo di qualità di ciascun lotto di pannelli come segue –

1. Inoculare un pannello con *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 secondo la procedura raccomandata (fare riferimento a "Procedura del test").
2. Incubare il pannello per 18–20 h a 35–37 °C.
3. Leggere il pannello con il visore per pannelli e la tavola sinottica dei colori delle reazioni; registrare le reazioni nel blocchetto per referti. In alternativa, leggere il pannello sul lettore **BD BBL Crystal AutoReader**.
4. Comparare le reazioni registrate a quelle elencate alla Tabella 4 (*vedere pag. 37*). Se si ottengono risultati divergenti, confermare la purezza del ceppo per il controllo di qualità, prima di rivolgersi al Servizio Tecnico della BD.

I risultati dei test previsti per ceppi supplementari di controllo di qualità sono elencati alla Tabella 5.

Le procedure prescritte per il controllo di qualità devono essere effettuate in conformità alle norme vigenti o ai requisiti di accreditazione e alla prassi di controllo di qualità del laboratorio specifico. Per una guida alla prassi di controllo di qualità appropriata, si consiglia di consultare le norme CLIA e la documentazione CLSI in merito.

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Il sistema **BD BBL Crystal GP ID** è stato creato per le unità tassonomiche fornite. Unità tassonomiche diverse da quelle elencate alla Tabella 1 non vanno testate con questo sistema.

Il 'database' **BD BBL Crystal GP ID** è stato sviluppato con i terreni di marca **BBL**. La reattività di alcuni substrati nei sistemi d'identificazione miniaturizzati può dipendere dai terreni usati nelle preparazioni dell'inoculo. Viene raccomandato l'uso dei seguenti terreni con il sistema **BD BBL Crystal GP ID**: agar TSA II e agar sangue Columbia. È accettabile anche l'uso di terreni selettivi come PEA o CNA. Non vanno usati i terreni contenenti esulina.

I sistemi d'identificazione **BD BBL Crystal** si servono di un microambiente modificato, per cui i valori previsti per i test individuali potrebbero essere diversi dalle informazioni precedentemente ottenute con reazioni in test convenzionali. L'accuratezza del sistema **BD BBL Crystal GP ID** si fonda sull'uso statistico di test appositi creati su un 'database' esclusivo.

Sebbene il sistema **BD BBL Crystal GP ID** sia di aiuto nella differenziazione microbica, si deve tener presente che possono esistere leggere variazioni tra i ceppi di una specie. L'uso di pannelli e l'interpretazione dei risultati richiede un microbiologo competente. L'identificazione finale dell'isolato deve tener conto dell'origine del campione, l'aerotolleranza, la morfologia della cellula, le caratteristiche delle colonie sui vari terreni, così come i prodotti metabolici finali come determinato mediante gascromatografia liquida, laddove sia necessario.

Benché la maggioranza degli isolati di *Enterococcus faecium* venga identificata correttamente nel sistema **BD BBL Crystal GP**, alcuni ceppi di *Enterococcus faecium* resistenti alla vancomicina producono reazioni di substrato atipiche che possono farli identificare come *Enterococcus durans* o, più raramente, come *Helcococcus kunzii*. Si raccomanda pertanto un test di conferma in caso di identificazione di uno di tali organismi.

Per preparare la sospensione dell'inoculo occorre utilizzare esclusivamente tamponi applicatori con punta in cotone, in quanto quelli realizzati in poliestere potrebbero far diventare viscoso il fluido di inoculo. Ciò potrebbe a sua volta dar luogo ad un inoculo di quantità insufficiente per riempire i pozzetti. Una volta rimossi dai sacchetti sigillati, i coperchi devono essere usati entro 1 h per assicurare una performance adeguata. Tenere la copertina antipolvere sul coperchio fino al momento dell'uso.

L'incubatore in cui si mettono i pannelli va umidificato per impedire l'evaporazione del fluido d'inoculo dai pozzetti durante l'incubazione. Il livello di umidità raccomandato è del 40–60%.

Dopo l'inoculo, i pannelli vanno incubati sempre **capovolti** (le finestre più ampie verso l'alto; l'etichetta rivolta verso il basso) in modo da massimizzare l'efficacia dei substrati.

Se il profilo del test **BD BBL Crystal** dà un risultato di "Nessuna identificazione" e la purezza della coltura è stata confermata, è probabile che (i) l'isolato del test stia producendo *reazioni BD BBL Crystal atipiche* (che possono anche essere causate da errori di metodologia), (ii) la specie del test non fa parte delle unità tassonomiche previste o (iii) il sistema non è in grado d'identificare l'isolato del test con il grado di sicurezza necessario. Se si escludono possibili errori da parte dell'utilizzatore, ripetere il test usando i metodi tradizionali.

CARATTERISTICHE DI PERFORMANCE

Riproducibilità: La riproducibilità delle reazioni dei substrati **BD BBL Crystal GP ID** (29) è stata studiata mediante analisi ripetute in uno studio esterno condotto in quattro laboratori clinici (quattro valutazioni in totale). La riproducibilità delle reazioni dei substrati individuali è risultata in una gamma compresa tra 79,2% e 100%. La riproducibilità globale del pannello **BD BBL Crystal GP ID** è risultata del 96,7%.²⁰

Grado di accuratezza dell'identificazione: La performance del sistema **BD BBL Crystal GP ID** è stata paragonata a quella dei sistemi di identificazione attualmente in commercio usando **isolati clinici e colture in stock**. Sono state condotte quattro analisi in quattro laboratori indipendenti. Per stabilire le caratteristiche di performance sono stati impiegati sia gli isolati di routine pervenuti al laboratorio clinico, sia gli isolati precedentemente identificati scelti dalle sedi della prova clinica.

Dei 735 isolati testati negli studi, il sistema **BD BBL Crystal GP ID** ne ha riportato in maniera esatta 668 (90,9%), compresi gli isolati che hanno richiesto analisi supplementari per la loro risoluzione. 56 isolati (7,6%) non sono stati identificati correttamente ed un messaggio di "Nessuna identificazione" è stato ottenuto per 11 isolati (1,5%).²⁰

DISPONIBILITÀ

N° di cat.	Descrizione	N° di cat.	Descrizione
245140	BD BBL Crystal GP Gram-Positive ID System, 1 kit.	221165	Agar Columbia BD BBL con sangue di montone al 5%, confezione da 20.
245038	BD BBL Crystal ANR, GP, RGP, N/H ID Inoculum Fluid (fluido d'inoculo).	221263	Agar Columbia BD BBL con sangue di montone al 5%, confezione da 100.
245031	Visore per pannelli BD BBL Crystal , modello per gli U.S.A., 110 V, 60 Hz.	221352	Agar Columbia CNA BD BBL con sangue di montone al 5%, confezione da 20.
245032	Visore per pannelli BD BBL Crystal , modello per l'Europa, 220 V, 50 Hz.	221353	Agar Columbia CNA BD BBL con sangue di montone al 5%, confezione da 100.
245033	Visore per pannelli BD BBL Crystal , modello per il Giappone, 100 V, 50/60 Hz.	221179	Agar alcol fenilettilico BD BBL con sangue di montone al 5%, confezione da 20.
245034	Tube UV ad onde lunghe del visore per pannelli BD BBL Crystal .	221277	Agar alcol fenilettilico BD BBL con sangue di montone al 5%, confezione da 100.
245036	Tube a luce bianca del visore per pannelli BD BBL Crystal .	221239	Agar soia Trypticase BD BBL con sangue di montone al 5% (TSA II), confezione da 20.
245037	Manuale dei codici per i sistemi d'identificazione BD BBL Crystal Gram-Positive.	221261	Agar soia Trypticase BD BBL con sangue di montone al 5% (TSA II), confezione da 100.
441010	Software BD BBL Crystal Mind	212539	Kit BD BBL per la colorazione di Gram, confezione di 4 flaconi da 250 mL.

BIBLIOGRAFIA: Vedere "References" nel testo inglese.

Assistenza e supporto tecnico BD Diagnostics: rivolgersi al rappresentante locale BD o visitare il sito www.bd.com/ds.

BD BBL Crystal Identification Systems Gram-Positive ID Kit

Português

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O Sistema de Identificação (ID) de Gram-Positivos (GP) **BD BBL Crystal** consiste num método de identificação miniaturizado que utiliza substratos convencionais, fluorogénicos e cromogénicos modificados. Destina-se à identificação de bactérias aeróbias gram-positivas isoladas frequentemente.^{1,2,13,16}

SUMÁRIO E EXPLICAÇÃO

Os primeiros relatos da utilização de micrométodos para identificação bioquímica de microrganismos datam de 1918.³ Várias publicações participaram a utilização de discos de papel impregnados com reagentes e de métodos utilizando micro-tubos na diferenciação de bactérias entéricas.^{3,4,7,17,19} O interesse nos sistemas de identificação miniaturizados levou à introdução de vários sistemas no mercado, no início dos anos sessenta, cujas vantagens residiam na necessidade de um reduzido espaço de armazenamento, maior prazo de validade, controlo de qualidade padronizado e facilidade de utilização.

De uma forma geral, muitos dos testes usados nos Sistemas de ID **BD BBL Crystal** consistem em modificações de métodos clássicos. Neles se incluem testes para a fermentação, oxidação, degradação e hidrólise de vários substratos. Paralelamente, existem substratos ligados a cromogénicos e fluorogénicos, como sucede no painel **BD BBL Crystal** para ID de GP, que se destinam à detecção de enzimas utilizados pelos microrganismos para metabolizar vários substratos.^{5,7,8,9,11,12,14,15}

O Conjunto de ID GP da **BD BBL Crystal** é constituído por (i) tampas dos painéis para ID de GP **BD BBL Crystal**, (ii) bases **BD BBL Crystal** e (iii) tubos com Líquido de Inóculo **BD BBL Crystal** ANR, GP, RGP, N/H ID Inoculum Fluid (IF). A tampa contém 29 substratos desidratados e um controlo da fluorescência em pontas de dentes de plástico. A base é dotada de 30 poços de reacção. O inóculo de teste é preparado com o líquido de inóculo e é usado para encher todos os 30 poços da base. Quando a tampa é alinhada com a base e encaixada, o inóculo de teste rehidrata os substratos secos e inicia as reacções do teste.

Após um período de incubação, os poços são analisados relativamente à existência de alterações de cor ou à presença de fluorescência, consequência das actividades metabólicas dos microrganismos. O padrão das 29 reacções obtido é convertido num número de perfil com dez dígitos, que é usado como base de identificação.¹⁸ A base de dados **BD BBL Crystal** GP ID contém padrões de reacções enzimáticas e bioquímicas dos 29 substratos **BD BBL Crystal** GP ID correspondentes a uma ampla variedade de microrganismos. A identificação faz-se a partir de uma análise comparativa entre o padrão da reacção do isolado testado e os padrões presentes na base de dados. No Quadro 1 facultam-se uma lista completa dos grupos que constituem a base de dados actual.

PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

Os painéis **BD BBL Crystal** GP ID contêm 29 substratos bioquímicos e enzimáticos secos. Utiliza-se uma suspensão bacteriana presente no líquido de inóculo para rehidratar os substratos. Os testes usados no sistema baseiam-se na utilização e degradação de substratos específicos pelos microrganismos, detectadas por vários sistemas indicadores. A hidrólise enzimática de substratos fluorogénicos contendo os derivados cumarínicos 4-metilumbeliferona (4MU) ou 7-amino-4-metilcumarina (7-AMC), provoca um aumento da fluorescência, facilmente detectável por meios visuais utilizando uma fonte de luz UV.^{11,12,14,15} Após hidrólise, os substratos cromogénicos provocam alterações de cor que podem ser detectadas visualmente. Paralelamente, existem testes que detectam a capacidade que determinado microrganismo apresenta para hidrolisar, degradar, reduzir ou utilizar de outra forma um substrato dos Sistemas de ID **BD BBL Crystal**.

No Quadro 2 descrevem-se as reacções utilizadas pelos vários substratos e uma explicação resumida dos princípios utilizados no sistema. A localização do painel nos quadros referidos indica a fila e coluna em que se localiza o poço (por exemplo: 1J refere-se à Fila 1 na Coluna J).

REAGENTES

O painel **BD BBL Crystal** GP ID contém 29 substratos enzimáticos e bioquímicos. Consulte o Quadro 3 para uma lista dos princípios activos.

Avisos e Precauções:

Para uso em Diagnóstico *in-vitro*.

Depois de terem sido usados, todos os materiais infecciosos, incluindo as placas, zaragatoas de algodão, tubos com líquido de inóculo e painéis devem ser sujeitos ao autoclave antes de se proceder ao seu descarte ou incineração.

ARMAZENAMENTO E MANIPULAÇÃO/PRAZO DE VALIDADE

Tampas: As tampas são embaladas individualmente e devem ser armazenadas sem abrir no frigorífico, entre 2 e 8 °C. NÃO CONGELAR. Inspeccionar visualmente a embalagem relativamente à existência de buracos ou fissuras na folha de alumínio. Não utilizar se a embalagem se parecer danificada. Na embalagem original, as tampas, caso sejam armazenadas conforme recomendado, irão manter a sua reactividade esperada até ao final do prazo de validade.

Bases: As bases são embaladas em dois conjuntos de dez, em tabuleiros de incubação **BD BBL Crystal**. As bases são empilhadas viradas para baixo, com o objectivo de minimizar a contaminação pelo ar. Armazenar num ambiente isento de pó, entre 2 e 30 °C, até estarem prontas a usar. Armazenar as bases não usadas no tabuleiro, num saco de plástico. Deverão utilizar-se tabuleiros vazios para incubar os painéis inoculados.

Líquido de Inóculo: O Líquido de Inóculo **BD BBL Crystal** ANR, GP, RGP, N/H ID Inoculum Fluid (IF) é embalado em dois conjuntos de dez tubos. Inspeccionar visualmente os tubos relativamente à existência de fissuras, fugas, etc. Não utilizar caso pareçam existir fugas, danos no tubo ou tampa ou sinais visuais de contaminação (ou seja, nebulosidade, turvação). Armazenar os tubos entre 2 e 25 °C. O prazo de validade está impresso no rótulo do tubo. O Líquido de Inóculo **BD BBL Crystal** ANR, GP, RGP, N/H só deverá ser usado com os painéis **BD BBL Crystal** GP ID.

Após a sua recepção, armazenar o conjunto **BD BBL Crystal** GP ID entre 2 e 8 °C. Depois de aberto, as tampas são as únicas que necessitam de ser armazenadas entre 2 e 8 °C. Os restantes constituintes do conjunto podem ser armazenados entre 2 e 25 °C. Se o conjunto ou qualquer dos constituintes for armazenado no frigorífico, deverá ser trazido à temperatura ambiente antes de se proceder à sua utilização.

COLHEITA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

Os Sistemas **BD BBL Crystal** ID não se destinam a uso directo com amostras clínicas. Utilizar isolados de meios tais como **Trypticase Soy Agar** with 5% Sheep Blood (Agar de Soja **Trypticase** com 5% de Sangue de Ovelha) (TSA II) ou Columbia Agar with 5% Sheep Blood (Agar Columbia com 5% de Sangue de Ovelha) (Columbia). A utilização de meios selectivos tais como Agar de Álcool Feniletil com 5% de Sangue de Ovelha (PEA) ou Agar Columbia CNA com 5% de Sangue de Ovelha (CNA) também é aceitável. Não se deverão usar meios contendo esculina. O isolado de teste deve consistir numa cultura pura, com menos de 18 a 24 h de idade para a maioria dos géneros; para alguns microrganismos de crescimento lento, poderá revelar-se aceitável um período de tempo de até 48 h. Quando se utilizam zaragatoas, deverão utilizar-se apenas aplicadores com ponta de algodão para preparar as suspensões do inóculo. Algumas zaragatoas de poliéster podem colocar problemas com a inoculação dos painéis. (Ver "Limitações do Procedimento"). Após remoção das tampas dos sacos selados, estas devem ser usadas dentro de 1 h, para se garantir um desempenho adequado. A cobertura de plástico deverá permanecer na tampa até esta ser usada.

A incubadora usada deverá estar humedecida para impedir a evaporação de líquido dos poços durante a incubação. O nível de humidade recomendado é de 40 a 60%. A utilidade dos sistemas **BD BBL Crystal** ID ou de qualquer outro procedimento de diagnóstico efectuado com amostras clínicas é directamente influenciada pela qualidade das próprias amostras. Recomenda-se altamente que os laboratórios utilizem os métodos discutidos no *Manual of Clinical Microbiology* para colheita, transporte e inoculação de amostras no meio de isolamento primário.^{1,16}

PROCEDIMENTO DE TESTE

Material Fornecido: **BD BBL Crystal** GP ID Kit –

20 Tampas dos painéis **BD BBL Crystal** GP ID,

20 Bases **BD BBL Crystal**,

20 Tubos com Líquido de Inóculo **BD BBL Crystal** ANR, GP, RGP, N/H ID Inoculum Fluid (IF). Cada tubo possui aproximadamente 2,3 ± 0,15 mL de Líquido para Inóculo contendo: KCl 7,5 g, CaCl₂ 0,5 g, Tricina N-[2-hidroxi-1, 1-bis(hidroxi)metil]metil] glicina 0,895 g, água purificada até 1000 mL.

2 tabuleiros de incubação,

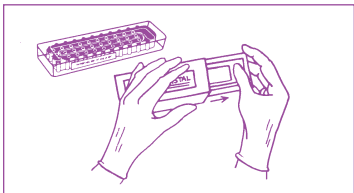
1 Caderno de Relatório **BD BBL Crystal** GP ID.

Material Necessário mas Não Fornecido: Zaragatoas de algodão esterilizadas (*não usar zaragatoas de poliéster*), incubadora (35 a 37 °C) sem CO₂ (40 a 60% de humidade), padrão de McFarland No. 0,5, **BD BBL Crystal** Panel Viewer (Leitor do Painel **BD BBL Crystal**), **BD BBL Crystal** ID System Electronic Codebook (Livro de Codificação Electrónico do sistema de ID **BD BBL Crystal**) ou **BD BBL Crystal** GP Manual Codebook (Manual de Codificação de GP **BD BBL Crystal**) e meios de cultura adequados.

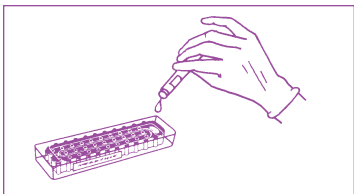
Também é necessário o equipamento e material de laboratório usados para preparação, armazenamento e manipulação de amostras clínicas.

Procedimento de Análise: O Sistema **BD BBL Crystal GP ID** necessita de uma coloração de Gram.

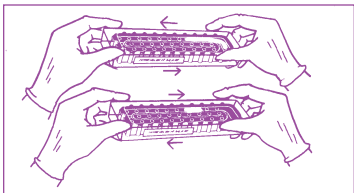
1. Retirar as tampas do saco. Descartar o exsiccante. Após remoção das tampas dos sacos, estas devem ser usadas dentro de 1 h. Não usar o painel caso não exista exsiccante no saco.
2. Retirar um tubo com inóculo de líquido e rotular com o número da amostra do doente. Utilizando uma técnica asséptica, com a ponta de uma zaragatoa de algodão esterilizada (*não usar uma zaragatoa de poliéster*), com uma aplicadora de madeira ou com uma ansa de plástico descartável, escolher colónias com morfologia idêntica a partir de um dos meios recomendados (ver a secção “Colheita e Processamento das Amostras”).
3. Suspender as colónias num tubo com Líquido de Inóculo **BD BBL Crystal ANR, GP, RGP, N/H ID**.
4. Voltar a tapar o tubo e levar ao misturador automático durante cerca de 10 a 15 s. A turvação deverá ser equivalente a um padrão de McFarland No. 0,5. Caso a concentração da suspensão do inóculo seja superior à do padrão de McFarland recomendado, aconselha-se que se cumpra um dos passos que se seguem:
 - a. Usar um tubo de líquido de inóculo fresco para preparar uma nova suspensão de inóculo, equivalente a um padrão de McFarland No. 0,5.
 - b. Caso não estejam disponíveis mais colónias para preparação de uma nova suspensão de inóculo, usar uma técnica asséptica e diluir o inóculo adicionando o volume mínimo exigido (não ultrapassar 1,0 mL) de solução salina estéril a 0,85% ou de líquido de inóculo para tornar a turvação equivalente a um Padrão de McFarland No. 0,5. Retirar a quantidade em excesso adicionada ao tubo com uma pipeta esterilizada, de forma a que o volume final de líquido de inóculo seja aproximadamente equivalente ao volume original do tubo ($2,3 \pm 0,15$ mL). A não realização deste ajuste de volume irá provocar um derramamento da suspensão do inóculo acima da zona negra da base, inutilizando o painel.
5. Pegar numa base e marcar o número da amostra do doente na sua face lateral.
6. Colocar a totalidade do conteúdo do tubo do líquido de inóculo na área alvo da base.



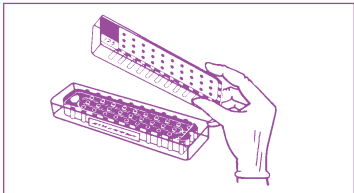
7. Segurar na base suavemente com as mãos e fazer circular suavemente o inóculo ao longo das faixas, até que todos os poços fiquem cheios. Fazer circular qualquer líquido em excesso de volta para a área alvo e colocar a base em cima da bancada.



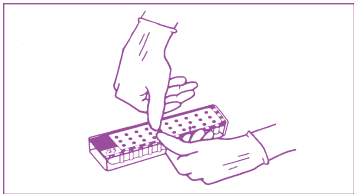
8. Alinhar a tampa de forma a que a extremidade marcada da tampa fique por cima da área alvo da base.



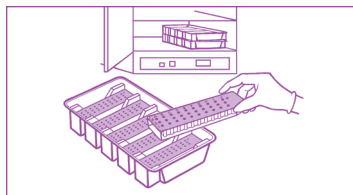
9. Empurrar até sentir uma ligeira resistência. Coloque os polegares sobre o bordo da tampa em cada um dos lados, em direcção à área central do painel, e empurre simultaneamente para baixo, até a tampa se encaixar em posição (devem ouvir-se dois cliques).



Placa de Pureza: Utilizando uma ansa esterilizada, recuperar uma pequena gota do tubo do líquido de inóculo antes ou depois de inocular a base, e inocular uma placa ou tira de agar (qualquer meio adequado) para confirmação da pureza. Descartar o tubo do líquido de inóculo e a tampa num recipiente de descarte de detritos com potencial risco biológico. Incubar a placa ou tira durante 24–48 h a 35–37 °C em condições adequadas. A placa de pureza ou tira também podem ser usados para qualquer teste adicional ou serologia, caso se mostre necessário.

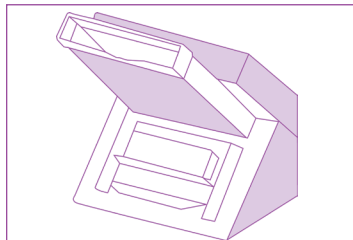


Incubação: Colocar os painéis inoculados em tabuleiros de incubação. Dez painéis podem ajustar-se num tabuleiro (5 filas de 2 painéis). Todos os painéis deverão ser incubados **virados para baixo** (com as janelas maiores viradas para cima; rótulo virado para baixo), numa incubadora sem CO₂ e com 40 a 60% de **humidade**. Os tabuleiros não deverão ser empilhados em grupos superiores a dois durante a incubação. O tempo de incubação para os painéis é de 18 a 24 h a 35–37 °C. Caso se incubem os painéis durante 24 h, estes deverão ser lidos nos 30 min subsequentes a serem retirados da incubadora.



Leitura: Depois do período recomendado de incubação, retirar os painéis da incubadora. Todos os painéis deverão ser lidos **virados para baixo** (com as janelas maiores para cima; rótulo virado para baixo) usando o **BD BBL Crystal Panel Viewer**. Consultar o quadro da cor da reacção e/ou o Quadro 3 para uma interpretação das reacções. Usar o Caderno de Relatório de ID de GP **BD BBL Crystal** para registar as reacções. Em alternativa, pode utilizar o **BD BBL Crystal AutoReader** (Leitor Automático **BD BBL Crystal**) para ler os painéis.

- Ler primeiro as colunas E a J, usando a fonte de luz regular (branca).
- Ler as colunas A a D (substratos fluorescentes) usando a fonte de luz UV no leitor do painel. Um poço de substrato fluorescente só é considerado positivo quando a intensidade da fluorescência observada nesse poço é superior à do poço do Controlo Negativo (4A).



Cálculo do Número de Perfil BD BBL Crystal: A cada resultado de teste (à excepção do 4A, que é usado como controlo negativo da fluorescência) com uma pontuação positiva é atribuído um valor de 4, 2 ou 1, correspondente à fila em que se localiza o teste. Atribui-se um valor de 0 (zero) a qualquer resultado negativo. De seguida, somam-se os valores resultantes de cada reacção positiva em cada coluna. Produz-se um número com 10 dígitos; este é o número de perfil.

Exemplo:	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4	+	+	–	–	+	+	+	–	+	–
2	–	+	+	+	–	+	–	+	+	–
1	+	–	+	–	+	–	–	+	+	–
Perfil	1	6	3	2	5	6	4	3	7	0

* (4A) = controlo negativo da fluorescência

O número de perfil resultante e a morfologia das células, se for conhecida, deverão ser introduzidos num computador pessoal (PC) que tenha instalado o software **BD BBL Crystal MIND**, para se obter a identificação. Também se encontra disponível um livro de codificação manual. Se não existir nenhum PC disponível, contacte a Assistência Técnica da BD para obter assistência relativamente à identificação. Se utilizar o **BD BBL Crystal AutoReader**, os microorganismos são automaticamente identificados pelo PC.

Controlo de Qualidade do Utilizador: Recomendam-se testes de controlo de qualidade para todos os lotes de painéis, da seguinte forma–

- Inocular um painel com *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 em conformidade com o procedimento recomendado (ver "Procedimento de Teste").
- Incubar o painel entre 35 e 37 °C durante 18 a 20 h.
- Ler o painel com o leitor do painel e com o quadro da cor da reacção; registar as reacções no caderno de relatório. Em alternativa, ler o painel no **BD BBL Crystal AutoReader**.
- Comparar as reacções registadas com as enumeradas no Quadro 4 (ver a página 37). Se forem obtidos resultados discrepantes, confirme a pureza da estirpe do controlo de qualidade antes de contactar a Assistência Técnica da BD.

No Quadro 5 mostram-se os resultados esperados do teste para estirpes de controlo de qualidade adicionais.

Os requisitos do controlo de qualidade devem ser efectuados de acordo com os regulamentos ou requisitos de acreditação europeus e/ou nacionais aplicáveis e com os procedimentos padrão de controlo de qualidade do seu laboratório. O utilizador deve consultar as orientações CLSI e os regulamentos CLIA relevantes sobre as práticas de Controlo da Qualidade adequadas.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

O Sistema de ID de GP **BD BBL Crystal** foi concebido para os grupos fornecidos. Grupos diferentes dos enumerados no Quadro 1 não se destinam a ser utilizados neste sistema.

A base de dados **BD BBL Crystal** GP ID foi desenvolvida com meios comercializados pela **BBL**. A reactividade de alguns substratos em sistemas de identificação miniaturizados poderá depender dos meios originais usados na preparação do inóculo. Recomendamos a utilização dos seguintes meios para uso com o Sistema **BD BBL Crystal** GP ID: TSA II e Agar de Sangue Columbia. Também é aceitável a utilização de meios selectivos, tais como PEA ou CNA. Não se deverão usar meios contendo esculina.

Os Sistemas de Identificação **BD BBL Crystal** utilizam um microambiente modificado; por conseguinte, os valores esperados para os testes individuais podem ser diferentes das informações previamente estabelecidas com reacções de teste convencionais. A precisão do Sistema **BD BBL Crystal** GP ID baseia-se no uso estatístico de testes especialmente concebidos e numa base de dados exclusiva.

Embora o Sistema **BD BBL Crystal** GP ID ajude na diferenciação de microrganismos, convém reconhecer que poderão existir pequenas variações entre estirpes de uma mesma espécie. A utilização dos painéis e a interpretação dos resultados requer um microbiologista competente. A identificação final do isolado deverá tomar em consideração a origem da amostra, tolerância ao ar, morfologia celular, características das colónias em vários meios e os produtos de degradação metabólica conforme determinados por cromatografia de gás-líquido, sempre que se considerar necessário.

Embora a maioria dos isolados de *Enterococcus faecium* se identifiquem correctamente no Sistema **BD BBL Crystal** GP, algumas estirpes de *Enterococcus faecium* Resistentes à Vancomicina produzem reacções de substrato atípicas que podem conduzir a uma identificação de *Enterococcus durans* ou, com menor frequência, de *Helcococcus kunzii*. Por conseguinte, recomendam-se testes de confirmação quando é reportado *Enterococcus durans* ou *Helcococcus kunzii* como a identificação.

Na preparação da suspensão do inóculo deverão utilizar-se apenas zaragatoas com aplicador dotado de uma ponta de algodão, dado que algumas zaragatoas de poliéster podem fazer com que o líquido de inóculo se torne viscoso. Tal poderá originar uma quantidade de líquido de inóculo insuficiente para encher os poços. Após remoção das tampas dos sacos selados, estas devem ser usadas dentro de 1 h, para se garantir um desempenho adequado. A cobertura de plástico deverá permanecer na tampa até esta ser usada.

A incubadora onde se colocam os painéis deverá estar humedecida para impedir a evaporação do líquido de inóculo dos poços durante a incubação. O nível de humidade recomendado é de 40 a 60%.

Após a inoculação, os painéis deverão ser incubados **virados para baixo** (com as janelas maiores viradas para cima; rótulo virado para baixo), para maximizar a eficácia dos substratos.

Se o perfil de teste **BD BBL Crystal** produzir um resultado "Não identificado" e se a pureza da cultura foi confirmada, é provável que (i) o isolado de teste esteja a produzir reacções atípicas **BD BBL Crystal** (que também podem ser originadas por erros cometidos durante o procedimento), (ii) a espécie em teste não faça parte dos grupos contemplados ou (iii) o sistema seja incapaz de identificar o isolado de teste com o nível de confiança exigido. Caso se exclua a existência de erros cometidos pelo utilizador, recomenda-se a utilização de métodos de teste convencionais.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Reprodutibilidade: Num estudo externo envolvendo quatro laboratórios clínicos, (num total de quatro avaliações), procedeu-se ao estudo da reprodutibilidade das reacções do substrato **BD BBL Crystal** GP ID (29) recorrendo a um teste de réplicas. A reprodutibilidade das reacções de substrato individuais variou entre 79,2% e 100%. A reprodutibilidade global do painel **BD BBL Crystal** GP ID foi determinada como sendo de 96,7%.²⁰

Precisão de Identificação: Procedeu-se à comparação entre o desempenho do Sistema **BD BBL Crystal** GP ID e o de sistemas actualmente disponíveis no mercado, utilizando **isolados clínicos e culturais**. Efectuou-se um total de quatro estudos em quatro laboratórios independentes. Utilizaram-se isolados frescos de rotina que chegaram ao laboratório clínico, bem como isolados previamente identificados, à escolha dos locais de ensaio clínico, com o objectivo de estabelecer as características de desempenho. De um total de 735 isolados que foram testados nos estudos, 668 (90,9%) foram correctamente identificados (incluindo isolados exigindo testes suplementares) mediante a utilização do Sistema de Identificação de GP **BD BBL Crystal**. Um total de 56 (7,6%) isolados foram incorrectamente identificados, tendo-se obtido uma mensagem de "Não Identificado" em 11 (1,5%) isolados.²⁰

DISPONIBILIDADE

N.º de Cat.	Descrição	N.º de Cat.	Descrição
245140	BD BBL Crystal GP Gram-Positive ID System, 1 Kit.	221165	BD BBL Columbia Agar with 5% Sheep Blood, embalagem de 20.
245038	BD BBL Crystal ANR, GP, RGP, N/H ID Inoculum Fluid.	221263	BD BBL Columbia Agar with 5% Sheep Blood, caixa de 100.
245031	BD BBL Crystal Panel Viewer, Modelo doméstico, 110 V, 60 Hz.	221352	BD BBL Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, embalagem de 20.
245032	BD BBL Crystal Panel Viewer, Modelo europeu, 220 V, 50 Hz.	221353	BD BBL Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, caixa de 100.
245033	BD BBL Crystal Panel Viewer, Modelo japonês, 100 V, 50/60 Hz.	221179	BD BBL Phenylethyl Alcohol Agar with 5% Sheep Blood, embalagem de 20.
245034	BD BBL Crystal Panel Viewer, Longwave UV Tube.	221277	BD BBL Phenylethyl Alcohol Agar with 5% Sheep Blood, caixa de 100.
245036	BD BBL Crystal Panel Viewer, White Light Tube.	221239	BD BBL Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood (TSA II), embalagem de 20.
245037	BD BBL Crystal Identification Systems Gram-Positive Manual Codebook.	221261	BD BBL Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood (TSA II), caixa de 100.
441010	BD BBL Crystal MIND Software	212539	BD BBL Gram Stain Kit, embalagem de 4 frascos de 250 ml. cada.

BIBLIOGRAFIA : Consulte "References" no texto em Inglês.

Assistência Técnica e Suporte da BD Diagnostics: contacte o representante local da BD ou visite www.bd.com/ds.

Somente para uso diagnóstico in vitro
 Importado e Distribuído no Brasil por:
 Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas Ltda
 Rua Cyro Correia Pereira 550, Curitiba – Paraná-Brasil
 CNPJ 21.551.379/0013-31
 Serviço de Suporte Técnico (11) 5185-9961
 Registro ANVISA nº 10033430208
 Centro de Relacionamento com o Cliente: 0800 0555 654

BD Sistemas de Identificación BBL Crystal Equipo para la identificación de bacterias gram-positivas

Español

USO PREVISTO

El sistema **BD BBL Crystal** para la identificación (ID) de bacterias gram-positivas (GP) es un método de identificación en miniatura que utiliza substratos convencionales, fluorogénicos y cromogénicos modificados. Se ha diseñado para la identificación de bacterias aerobias gram-positivas aisladas frecuentemente de muestras clínicas.^{1,2,13,16}

RESUMEN Y EXPLICACION

Ya en 1918 había informes sobre métodos micrométricos para la identificación bioquímica de microorganismos.³ Varias publicaciones han incluido estudios sobre el uso de discos de papel impregnados de reactivos y métodos con microtubos para diferenciar las bacterias entéricas.^{3,4,7,17,19} El interés en diseñar sistemas de identificación en miniatura llevó a la introducción de varios sistemas comerciales en los últimos años de la década de 1960, con las ventajas de menor espacio necesario para el almacenamiento, extensión de la fecha de caducidad, control de calidad uniforme y facilidad de uso.

En general, varios de los procedimientos de análisis usados en los sistemas **BD BBL Crystal ID** son modificaciones de métodos clásicos, incluyendo pruebas para la fermentación, la oxidación, la degradación y la hidrólisis de varios substratos. Además, hay substratos ligados a cromógenos y fluorógenos, como en el panel **BD BBL Crystal GP ID**, para la detección de enzimas que son utilizadas por los microbios para metabolizar varios substratos.^{5,7,8,9,11,12,14,15}

El equipo **BD BBL Crystal GP ID** incluye (i) tapas del panel **BD BBL Crystal GP ID**, (ii) bases **BD BBL Crystal** y (iii) tubos **BD BBL Crystal ANR**, **GP RGP**, **N/H ID** de fluido de inóculo (FI). La tapa contiene 29 substratos deshidratados y un control fluorescente en las puntas de las púas de plástico. La base tiene 30 pocillos para las reacciones. El inóculo de la prueba se prepara con el fluido de inóculo y se utiliza para llenar los 30 pocillos en la base. Cuando la tapa se alinea con la base, y luego se cierra, el inóculo de la prueba rehidrata los substratos secos e inicia las reacciones de las pruebas.

Después de un período de incubación, se examinan los pocillos para determinar cambios de color o presencia de fluorescencia que resultan de las actividades metabólicas de los microorganismos. La serie de colores resultante de las 29 reacciones se convierte en un número de perfil de diez dígitos que se utiliza como la base de identificación.¹⁸ Las series de reacciones bioquímicas y enzimáticas de los 29 substratos **BD BBL Crystal GP ID** para una gran variedad de microorganismos están almacenadas en la base de datos **BD BBL Crystal GP ID**. La identificación se deriva de un análisis comparativo entre las series de reacciones del aislado de la prueba y las de la base de datos. La Tabla 1 muestra la lista de grupos taxonómicos que comprende la base de datos actual.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

Los paneles del sistema **BD BBL Crystal GP ID** contienen 29 substratos bioquímicos y enzimáticos deshidratados. Para rehidratar los substratos se utiliza una suspensión de bacterias en el fluido de inóculo. Las pruebas usadas en el sistema se basan en la utilización y degradación microbiana de substratos específicos detectados por varios sistemas indicadores. La hidrólisis enzimática de los substratos fluorogénicos que contienen derivados cumarínicos del 4-metil-umbeliferona (4MU) o del 7-amino-4-metilcumarín (7-AMC) resulta en un aumento de la fluorescencia que se detecta fácilmente a simple vista con una lámpara de luz ultravioleta.^{11,12,14,15} Los substratos cromogénicos, después de sufrir hidrólisis, producen cambios de color que pueden detectarse visualmente. Además, hay pruebas que detectan la capacidad de un organismo de hidrolizar, degradar, reducir o de alguna forma utilizar un substrato en los sistemas **BD BBL Crystal ID**.

Las reacciones de varios de los substratos y una breve explicación de los principios usados en el sistema se describen en la Tabla 2. El lugar del panel en dichas tablas indica el renglón y la columna donde se encuentra el pocillo (por ejemplo: 1J indica el renglón 1 en la columna J).

REACTIVOS

El panel **BD BBL Crystal GP ID** contiene 29 substratos enzimáticos y bioquímicos. Vea la Tabla 3 para la lista de los ingredientes activos.

Advertencias y precauciones:

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Después de usarse, todos los materiales infecciosos incluyendo las placas, las torundas de algodón, los tubos de fluido de inóculo y los paneles deben esterilizarse en un autoclave antes de desecharlos o incinerarlos.

ALMACENAMIENTO Y MANEJO/VIDA UTIL

Tapas: Las tapas están envueltas individualmente y deben almacenarse cerradas en un refrigerador entre 2–8 °C. NO DEBEN CONGELARSE. Inspeccione en forma visual el paquete para detectar agujeros o roturas en la envoltura de papel de aluminio. No deben usarse si la envoltura parece estar dañada. Las tapas conservarán la reactividad esperada hasta la fecha de caducidad si se almacenan en el paquete original de acuerdo con las recomendaciones.

Bases: Las bases están envasadas en dos grupos de diez en las bandejas de incubación **BD BBL Crystal**. Las bases están apiladas boca abajo para reducir al mínimo la posibilidad de contaminación por el aire. Almacene en un lugar libre de polvo entre 2–30 °C hasta el momento de usarse. Almacene las bases sin usar en la bandeja, en una bolsa plástica. Las bandejas vacías deben usarse para incubar los paneles inoculados.

Fluido de inóculo: El fluido de inóculo (FI) del sistema **BD BBL Crystal ANR, GP, RGP, N/H ID** está envasado en dos grupos de diez tubos cada uno. Inspecciones visualmente los tubos para detectar roturas, fugas, etc. No deben usarse si se encuentran fugas, daños en los tubos o las tapas o si hay indicios evidentes de contaminación (por ejemplo, fluido brumoso o turbio). Almacene los tubos entre 2–25 °C. La fecha de caducidad está en la etiqueta del tubo. Solamente el fluido de inóculo **BD BBL Crystal ANR, GP, RGP, N/H** puede usarse con los paneles del sistema **BD BBL Crystal GP ID**.

Al recibirse, el equipo **BD BBL Crystal GP ID** debe almacenarse entre 2–8 °C. Una vez abierto, solamente deben almacenarse las tapas entre 2–8 °C. El resto de los componentes del sistema pueden almacenarse entre 2–25 °C. Si se ha almacenado el sistema o cualquiera de sus componentes en un refrigerador, espere a que estén a temperatura ambiente antes de usarlos.

RECOGIDA Y TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Los sistemas **BD BBL Crystal ID** no deben utilizarse directamente con muestras clínicas. Utilice aislados de un medio como agar soja **Trypticase** con 5% de sangre de cordero (TSA II) o agar Columbia con 5% de sangre de cordero (Columbia). También es aceptable el uso de medios selectivos como agar alcohol fenilético con 5% de sangre de cordero (PEA) o agar Columbia CNA con 5% de sangre de cordero (CNA). No se deben utilizar los medios que contienen esculina. El aislado para la prueba debe ser un cultivo puro de no más de 18–24 h para la mayoría de los géneros; cultivos hasta 48 h pueden ser aceptables para algunos organismos de crecimiento lento. Cuando se usan torundas, solamente deben usarse torundas con puntas de algodón para preparar las suspensiones del inóculo. Las torundas de poliéster pueden causar problemas en la inoculación de los paneles. (Vea "Limitaciones del procedimiento"). Las tapas deben utilizarse dentro de 1 h una vez retiradas de los envoltorios sellados con el fin de asegurar un rendimiento apropiado. La cubierta de plástico debe permanecer en la tapa hasta que se vaya a utilizar.

La incubadora utilizada debe ser humidificada para impedir la evaporación del fluido de los pocillos durante la incubación. La humedad relativa recomendada es del 40–60%. La utilidad de los sistemas **BD BBL Crystal ID** o cualquier otro procedimiento de diagnóstico a usarse con una muestra clínica está directamente afectado por la calidad de las mismas muestras. Se recomienda firmemente que los laboratorios utilicen los métodos discutidos en el *Manual of Clinical Microbiology* para tomar las muestras, transportarlas y sembrarlas en medios de aislamiento primario.^{1,16}

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

Materiales suministrados: Equipo **BD BBL Crystal GP ID** –

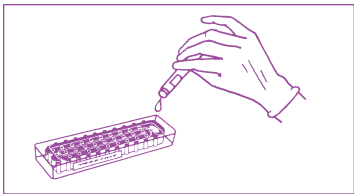
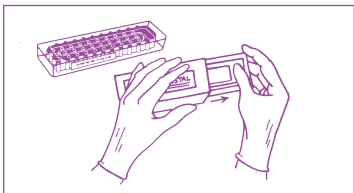
- 20 tapas del panel **BD BBL Crystal GP ID**,
- 20 bases **BD BBL Crystal**,
- 20 tubos **BD BBL Crystal ANR, GP, RGP, N/H ID** de fluido de inóculo. Cada tubo contiene aproximadamente 2,3 ± 0,15 mL de fluido de inóculo con la siguiente fórmula: KCl 7,5 g, CaCl₂ 0,5 g, Tricina N-[2-hidroxi-1, 1-bis (hidroximetil)metil] glicina 0,895 g, agua purificada a 1000 mL.
- 2 bandejas de incubación,
- 1 bloc de informes **BD BBL Crystal GP ID**.

Materiales necesarios pero no suministrados: Torundas estériles de algodón (*no use torundas de poliéster*), incubadora (35–37 °C) sin CO₂ (40–60% de humedad relativa), patrón McFarland N° 0,5, visor para paneles **BD BBL Crystal**, Libro electrónico de códigos para los sistemas **BD BBL Crystal ID** o Libro de códigos manual **BD BBL Crystal GP**, y medio de cultivo apropiado.

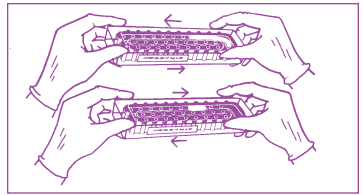
También son necesarios el equipo y material de laboratorio utilizado en la preparación, almacenamiento y manipulación de las muestras clínicas.

Procedimiento de la prueba: El sistema **BD BBL Crystal GP ID** requiere una tinción de Gram.

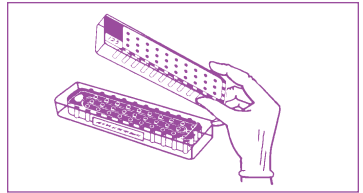
1. Saque las tapas de la envoltura. Deseche el desecante. Una vez sacadas de la envoltura, las tapas cubiertas deben usarse dentro de 1 h. No utilizar el panel si no hay desecante en la envoltura.
2. Tome un tubo de fluido de inóculo y anote el número de la muestra del paciente en la etiqueta. Usando una técnica aséptica, levante con la punta de una torunda de algodón estéril (*no use torundas de poliéster*) o con un palillo de madera o un asa plástica desechable varias colonias de la misma morfología de uno de los medios recomendados (vea la sección "Recogida y tratamiento de las muestras").
3. Ponga las colonias en suspensión en un tubo **BD BBL Crystal ANR, GP, RGP, N/H ID** de fluido de inóculo.
4. Vuelva a taper el tubo y agite en un vórtex por 10–15 s. La turbidez deberá ser equivalente a un patrón McFarland N° 0,5. Si la concentración de la suspensión del inóculo es mayor que el patrón McFarland recomendado, se recomienda seguir uno de los siguientes pasos:
 - a. Utilice un tubo de fluido de inóculo nuevo para preparar una nueva suspensión del inóculo equivalente a un patrón McFarland N° 0,5.
 - b. Si no hay más colonias disponibles para preparar una suspensión nueva del inóculo, utilizando técnicas asépticas diluya el inóculo agregando el mínimo volumen necesario (sin exceder 1,0 mL) de solución salina estéril al 0,85% o fluido de inóculo para reducir la turbidez a la del patrón McFarland N° 0,5. Utilizando una pipeta estéril, quite el volumen de fluido de inóculo sobrante que se ha agregado de modo que el volumen final sea aproximadamente igual al volumen original en el tubo (2,3 mL ± 0,15 mL). De no hacer este ajuste al volumen, la suspensión del inóculo se derramará por la parte negra de la base, haciendo inutilizable el panel.
5. Tome una base y anote el número del paciente en el costado.
6. Vierta todo el contenido del tubo de fluido de inóculo en el área demarcada de la base.



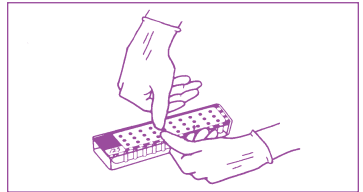
7. Tome la base con ambas manos, balanceándola suavemente hasta que los pocillos se llenen con el inóculo. Balancee la base *nuevamente* para escurrir el exceso de líquido de vuelta al área demarcada, y ponga la base sobre la mesa.



8. Alinee la tapa de modo que el extremo donde se encuentra la inscripción esté sobre el área demarcada de la base.

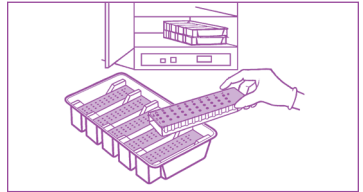


9. Presione hacia abajo hasta sentir una leve resistencia. Ponga los pulgares a cada lado del borde de la tapa en el medio del panel y presione hacia abajo simultáneamente hasta que la tapa se asiente en su lugar (se escucharán dos "golpecitos").



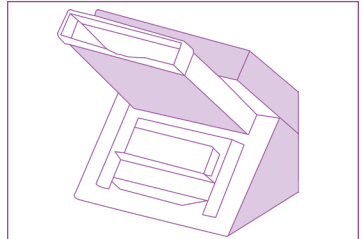
Prueba de cultivo puro: Para determinar la pureza del cultivo, extraiga una pequeña gota del tubo de fluido de inóculo con un alambre estéril, antes o después de inocular la base, e inocule un tubo de agar inclinado o una placa (cualquier medio de cultivo apropiado). Deseche el tubo del fluido de inóculo con su tapón en el recipiente para desechos biopeligrosos. Incube el tubo de agar inclinado o placa durante 24–48 h a una temperatura de 35–37 °C bajo condiciones adecuadas. Este cultivo también puede utilizarse para cualquier prueba suplementaria o en serología, si fuese necesario.

Incubación: Ponga los paneles inoculados en bandejas de incubación. Se pueden poner diez paneles en una bandeja (5 filas de 2 paneles). Todos los paneles deben incubarse **boca abajo** (ventana grande hacia arriba; etiqueta hacia abajo) en una incubadora sin CO₂ con 40–60% de **humedad relativa**. No deben apilarse más de dos bandejas durante la incubación. El tiempo de incubación para los paneles es de 18–24 h a una temperatura de 35–37 °C. Si los paneles se incuban durante 24 h, éstos deben leerse dentro de 30 min después de sacarlos de la incubadora.



Lectura: Después del período de incubación recomendado, saque los paneles de la incubadora. Todos los paneles deben leerse **boca abajo** (ventana grande hacia arriba; etiqueta hacia abajo) usando el visor para paneles **BD BBL Crystal**. Consulte la plantilla de reacciones de color y/o la Tabla 3 para la interpretación de las reacciones. Use el bloc de informes **BD BBL Crystal GP** para anotar las reacciones. También puede utilizarse el lector automático **BD BBL Crystal** para leer los paneles.

- Primero, lea las columnas E a J, usando la luz blanca.
- Lea las columnas A a D (substratos fluorescentes) usando la luz UV en el visor para paneles. Un pocillo con sustrato fluorescente se considera positivo *únicamente* si la intensidad de la fluorescencia observada en el pocillo es *mayor* que la del pocillo de control negativo (4A).



Cálculo del número de perfil BD BBL Crystal: Cada reacción positiva (excepto 4A, que se utiliza como control negativo de fluorescencia) recibe un valor de 4, 2 ó 1, correspondiente a la fila donde se encuentre la reacción. Cada resultado negativo recibe un valor de 0 (cero). Los valores resultantes de cada reacción positiva en cada columna se suman. Se obtiene de esta manera un número de 10 dígitos; éste es el número de perfil.

Ejemplo:	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4	*	+	–	–	+	+	+	–	+	–
2	–	+	+	+	–	+	–	+	+	–
1	+	–	+	–	+	–	–	+	+	–
Perfil	1	6	3	2	5	6	4	3	7	0

* (4A) = Control negativo de fluorescencia

El número de perfil resultante y morfología celular deben introducirse en un PC en el que se haya instalado el software **BD BBL Crystal Mind**, para obtener la identificación. También se dispone de un libro de códigos manual. Si no se dispone de un PC, póngase en contacto con el Servicio Técnico de BD Diagnostics para obtener ayuda con la identificación. Si se utiliza el lector automático **BD BBL Crystal**, el PC identifica automáticamente los microorganismos.

Control de calidad por parte del usuario: Se recomiendan pruebas de control de calidad para cada lote de paneles según las siguientes instrucciones –

1. Inocule un panel con *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 según las recomendaciones previas (consulte la sección "Procedimiento de la prueba").
2. Incube el panel durante 18–20 h entre 35–37 °C.
3. Lea el panel con ayuda del visor para paneles y la plantilla de color; anote las reacciones utilizando el bloc de informes. También puede leerse el panel en el lector automático **BD BBL Crystal**.
4. Compare los resultados anotados con los de la Tabla 4. Si hay discrepancias en los resultados obtenidos, compruebe la pureza de la cepa del control de calidad antes de ponerse en contacto con el Servicio Técnico de BD.

Los resultados esperados de la prueba para cepas de pruebas de control de calidad adicionales aparecen en la Tabla 5.

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 consultar las instrucciones de CLSI y normativas de CLIA correspondientes para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

El sistema **BD BBL Crystal** GP ID ha sido diseñado para los grupos taxonómicos suministrados. Los grupos taxonómicos que no aparecen indicados en la Tabla 1 no deben utilizarse con este sistema.

La base de datos del sistema **BD BBL Crystal** GP ID se creó con medios de la marca **BBL**. La reactividad de algunos sustratos en sistemas de identificación en miniatura puede depender de los medios suministrados para las preparaciones de los inóculos. Recomendamos el uso de los siguientes medios para ser utilizados con el sistema **BD BBL Crystal** GP ID: TSA II y agar sangre Columbia. También es aceptable el uso de medios selectivos como PEA o CNA. No se deben utilizar los medios que contienen esculina.

Los sistemas de identificación **BD BBL Crystal** utilizan micromedios modificados; por lo tanto, los resultados esperados de pruebas individuales pueden ser distintos de los datos previamente establecidos en reacciones de pruebas convencionales. La precisión del sistema **BD BBL Crystal** GP ID se basa en la interpretación estadística de pruebas específicamente diseñadas y una base de datos exclusiva.

Mientras que el sistema **BD BBL Crystal** GP ID ayuda en la identificación microbiana, es necesario admitir que pueden existir pequeñas variaciones en cepas de la misma especie. El uso de los paneles y la interpretación de los resultados requiere un microbiólogo competente. El origen de la muestra, tolerancia a la presencia de oxígeno, morfología celular, características de las colonias en varios medios al igual que los productos metabólicos determinados mediante cromatografía de gases deben tenerse en cuenta para la identificación final de cada aislado.

Aunque la mayoría de los aislados de *Enterococcus faecium* son correctamente identificados en el sistema **BD BBL Crystal** GP, algunas cepas de *Enterococcus faecium* resistentes a la vancomicina producen reacciones atípicas de sustratos que pueden conducir a identificarlos como *Enterococcus durans* o, con menos frecuencia, como *Helcococcus kunzii*. Por consiguiente, si el reporte identifica alguno de estos dos organismos, se recomienda hacer otro análisis para confirmar el resultado.

Sólo se deben utilizar torundas con puntas de algodón en la preparación de la suspensión del inóculo ya que algunas torundas de poliéster pueden ocasionar que el fluido de inóculo se torne viscoso. Esto puede dar como resultado un volumen insuficiente de fluido de inóculo para llenar los pocillos. Las tapas deben utilizarse dentro de 1 h una vez retiradas de los envoltorios sellados con el fin de asegurar un rendimiento apropiado. La cubierta de plástico debe permanecer en la tapa hasta que se utilice.

La incubadora donde se ponen los paneles debe ser humidificada para impedir la evaporación del fluido de inóculo de los pocillos durante el período de incubación. La humedad relativa recomendada es del 40–60%.

Los paneles solamente deben incubarse **boca abajo** después de la inoculación (ventana grande hacia arriba; etiqueta hacia abajo) para promover la eficacia de los sustratos.

Si el perfil de la prueba **BD BBL Crystal** da un resultado "Sin identificación" y se ha confirmado la pureza del cultivo, entonces es probable que (i) el aislado para la prueba produce *reacciones atípicas* **BD BBL Crystal** (que también pueden ser ocasionadas por errores del procedimiento), (ii) la especie de la prueba no forma parte de los grupos taxonómicos previstos o (iii) el sistema no es capaz de identificar el aislado para la prueba con el nivel de confianza requerido. Los métodos convencionales del análisis son recomendados cuando se ha descartado el error del usuario.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Reproducibilidad: En un estudio externo realizado en cuatro laboratorios clínicos (cuatro evaluaciones en total), se analizó la reproducibilidad de (29) reacciones de los sustratos del sistema **BD BBL Crystal** GP ID mediante pruebas múltiples. La reproducibilidad de las reacciones de los sustratos individuales varió entre 79,2% y 100%. Se determinó que la reproducibilidad general del panel **BD BBL Crystal** GP ID era del 96,7%.²⁰

Exactitud de la identificación: Se comparó el rendimiento del sistema **BD BBL Crystal** GP ID con sistemas actualmente disponibles en el comercio utilizando **aislados clínicos y cultivos madre**. Un total de cuatro estudios se llevó a cabo en cuatro laboratorios independientes. A fin de determinar las características de rendimiento, se utilizaron aislados frescos de rutina enviados al laboratorio clínico, así como aislados identificados anteriormente provenientes de los laboratorios clínicos participantes.

El sistema **BD BBL Crystal** GP ID identificó correctamente 668 (90,9%) de los 735 aislados totales analizados en los estudios (incluyendo los aislados que requirieron análisis adicional). Un total de 56 aislados (7,6%) fue identificado incorrectamente y se obtuvo un mensaje "Sin identificación" para 11 aislados (1,5%).²⁰

DISPONIBILIDAD

Nº de cat.	Descripción	Nº de cat.	Descripción
245140	BD BBL Crystal GP Gram-Positive ID System, 1 kit.	221165	Agar Columbia BD BBL con 5% de sangre de cordero, paquete de 20.
245038	BD BBL Crystal ANR, GP, RGP, N/H ID Inoculum Fluid (fluido de inóculo).	221263	Agar Columbia BD BBL con 5% de sangre de cordero, caja de 100.
245031	Visor para paneles BD BBL Crystal , modelo USA, 110 V, 60 Hz.	221352	Agar Columbia CNA BD BBL con 5% de sangre de cordero, paquete de 20.
245032	Visor para paneles BD BBL Crystal , modelo europeo, 220 V, 50 Hz.	221353	Agar Columbia CNA BD BBL con 5% de sangre de cordero, caja de 100.
245033	Visor para paneles BD BBL Crystal , modelo japonés, 100 V, 50/60 Hz.	221179	Agar alcohol feniletílico BD BBL con 5% de sangre de cordero, paquete de 20.
245034	Fuente de luz ultravioleta de onda larga para el visor para paneles BD BBL Crystal .	221277	Agar alcohol feniletílico BD BBL con 5% de sangre de cordero, caja de 100.
245036	Fuente de luz blanca para el visor para paneles BD BBL Crystal .	221239	Agar soja Trypticase BD BBL con 5% de sangre de cordero (TSA II), paquete de 20.
245037	Libro de códigos manual para el sistema BD BBL Crystal para la identificación de bacterias gram-positivas.	221261	Agar soja Trypticase BD BBL con 5% de sangre de cordero (TSA II), caja de 100.
441010	Software BD BBL Crystal Mind	212539	Equipo BD BBL de tinción de Gram, paquete de 4 frascos de 250 mL cada uno.

BIBLIOGRAFIA: Ver "Referencias" en el texto en inglés.

Servicio técnico de BD Diagnostics: póngase en contacto con el representante local de BD o visite www.bd.com/ds.

Table 1 / Tableau 1 / Tabelle 1 / Tabella 1 / Quadro 1 / Tabla 1

Taxa in BD BBL™ Crystal™ GP ID System / Taxonomie dans le système BD BBL Crystal GP ID / Im BD BBL Crystal GP-ID-System gespeichernte Taxa / Unità tassonomiche nel sistema BD BBL Crystal GP ID / Grupos no Sistema BD BBL Crystal GP ID / Grupos taxonómicos en el sistema BD BBL Crystal GP ID

<i>Actinomyces pyogenes</i>	<i>C. striatum</i> and / et / und / e / y <i>C. ulcerans</i>	<i>Micrococcus sedentarius</i>	<i>Staphylococcus schleiferi</i> (includes / inclut / einschließlich / include / inclui / incluye S. schleiferi) subsp <i>coagulans</i> and / et / und / e / y / S. schleiferi subsp <i>schleiferi</i>)
<i>Aerococcus</i> species / espèce / Speziez / specie / espèces de / especie (includes / inclut / einschließlich / include / inclui / incluye A. urinae and / et / und / e / y A. viridans)	<i>Corynebacterium striatum</i>	<i>Micrococcus</i> species / espèce / Speziez / specie / espécies de / especie (includes / inclut / einschließlich / include / inclui / incluye M. kristinae, M. luteus, M. lylae, M. roseus and / et / und / e / y M. sedentarius)	<i>Staphylococcus sciuri</i>
<i>Aerococcus urinae</i>	<i>Corynebacterium ulcerans</i>	<i>Oerskovia</i> species / espèce / Speziez / specie / espécies de / especie (includes / inclut / einschließlich / include / inclui / incluye O. turbata and / et / und / e / y O. xanthineolytica)	<i>Staphylococcus simulans</i>
<i>Aerococcus viridans</i>	<i>Enterococcus avium</i>	<i>Paenibacillus alvei</i>	<i>Staphylococcus simulans</i>
<i>Alloiooccus ottidisi</i> ¹	<i>Enterococcus casseliflavus/ gallinarum</i>	<i>Paenibacillus macerans</i>	<i>Staphylococcus vitulus</i>
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i> ¹	<i>Enterococcus durans</i>	<i>Pediococcus damnosus</i>	<i>Staphylococcus warneri</i>
<i>Bacillus brevis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Pediococcus parvulus</i>	<i>Staphylococcus xylosum</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	<i>Stomatococcus mucilaginosus</i>
<i>Bacillus circulans</i>	<i>Enterococcus hirae</i>	<i>Pediococcus</i> species / espèce / Speziez / specie / espécies de / especie (includes / inclut / einschließlich / include / inclui / incluye P. damnosus, P. parvulus and / et / und / e / y P. pentosaceus)	<i>Streptococcus acidominimus</i>
<i>Bacillus coagulans</i>	<i>Enterococcus raffinosus</i>	<i>Rhodococcus equi</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Bacillus licheniformis</i>	<i>Enterococcus solitarius</i>	<i>Rothia dentocariosa</i> ¹	<i>Streptococcus anginosus</i>
<i>Bacillus megaterium</i>	<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus bovis</i> (includes / inclut / einschließlich / include / inclui / incluye S. bovis I and / et / und / e / y S. bovis II)
<i>Bacillus pumilus</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Staphylococcus auricularis</i>	<i>Streptococcus constellatus</i>
<i>Bacillus</i> species / espèce / Speziez / specie / espécies de / especie (includes / inclut / einschließlich / include / inclui / incluye B. brevis, B. circulans, B. coagulans, B. licheniformis, B. megaterium, B. pumilus and / et / und / e / y B. sphaericus, P. alvei, P. macerans)	<i>Gemella haemolyans</i>	<i>Staphylococcus capitis</i> (includes / inclut / einschließ- lich / include / inclui / incluye S. capitis subsp <i>capitis</i> and / et / und / e / y S. capitis subsp <i>ureolyticus</i>)	<i>Streptococcus cricetus</i> ¹
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Gemella morbillorum</i>	<i>Staphylococcus carnosus</i>	<i>Streptococcus crista</i>
<i>Corynebacterium aquaticum</i>	<i>Gemella</i> species / espèce / Speziez / specie / espécies de / especie (includes / inclut / einschließlich / include / inclui / incluye G. haemolyans and / et / und / e / y G. morbillorum)	<i>Staphylococcus cohnii</i> (includes / inclut / einschließlich / include / inclui / incluye / inclut / incluye S. cohnii subsp <i>cohnii</i> and / et / und / e / y S. cohnii subsp <i>urealyticum</i>)	<i>Streptococcus equi</i> (includes / inclut / einschließ-lich / include inclui / incluye S. equi subsp <i>equi</i> and / et / und / e / y / S. equi subsp <i>zooepidemicus</i>)
<i>Corynebacterium bovis</i>	<i>Globicatella sanguis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Streptococcus equi</i> subsp <i>equi</i>
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> (includes / inclut / einschließ- lich / include / inclui / incluye C. diphtheriae subsp <i>gravis</i> , C. diphtheriae subsp <i>mitis</i> and / et / und / e / y C. diphtheriae subsp <i>intermedius</i>)	<i>Helcococcus kunzii</i>	<i>Staphylococcus equorum</i>	<i>Streptococcus equi</i> subsp <i>zooepidemicus</i>
<i>Corynebacterium genitalium</i>	<i>Lactococcus garvieae</i>	<i>Staphylococcus felis</i>	<i>Streptococcus equinus</i>
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp <i>cremoris</i>	<i>Staphylococcus gallinarum</i>	<i>Streptococcus gordonii</i>
<i>Corynebacterium kutscheri</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp <i>hardniae</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	<i>Streptococcus group / groupe / Gruppe / gruppo / grupo C / G</i>
<i>Corynebacterium propinquum</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp <i>lactis</i>	<i>Staphylococcus hominis</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp <i>lactis</i>	<i>Staphylococcus intermedius</i>	<i>Streptococcus milleri</i> group / groupe / Gruppe / gruppo / Grupo do / grupo (includes / inclut / einschließ-lich / include / inclui / incluye S. anginosus, S. constellatus and / et / und / e / y S. intermedius)
<i>Corynebacterium pseudogenitalium</i>	<i>Lactococcus raffinolactis</i>	<i>Staphylococcus kloosii</i>	
<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	<i>Lactococcus</i> species / espèce / Speziez / specie / espécies de / especie (includes / inclut / einschließlich / include / inclui / incluye L. lactis subsp <i>cremoris</i> , L. lactis subsp <i>hardniae</i> , L. lactis subsp <i>lactis</i> and / et / und / e / y L. raffinolactis)	<i>Staphylococcus lentus</i>	
<i>Corynebacterium renale</i> group / groupe / Gruppe / gruppo / grupo	<i>Leuconostoc citreum</i>	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	
<i>Corynebacterium</i> species / espèce / Speziez / specie / Espécies de / especie (includes / inclut / einschließlich / include / inclui / incluye C. aquaticum, C. bovis, C. kutscheri, C. propinquum, C. pseudodiphtheriticum, C. pseudotuberculosis, C. renale group / groupe / Gruppe / gruppo / grupo	<i>Leuconostoc lactis</i>	<i>Staphylococcus pasteurii</i> ¹	
	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> ssp <i>mesenteroides</i>	<i>Staphylococcus saccharolyticus</i>	
	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	
	<i>Leuconostoc species</i> (includes / inclut / einschließlich / include / inclui / incluye L. citreum, L. lactis, L. mesenteroides subsp <i>mesenteroides</i> and / et / und / e / y L. pseudomesenteroides)		
	<i>Listeria grayi</i> ¹		
	<i>Listeria ivanovii</i> subsp <i>ivanovii</i>		
	<i>Listeria monocytogenes</i>		
	<i>Listeria murrayi</i>		
	<i>Micrococcus kristinae</i>		
	<i>Micrococcus luteus</i>		
	<i>Micrococcus lylae</i>		
	<i>Micrococcus roseus</i>		

(...continued...)

<i>Streptococcus mitis</i>	inclui / incluyee <i>S. cricetus</i> , <i>S. mutans</i> and / et / und / e / y <i>S. sobrinus</i>	<i>Streptococcus salivarius</i> group (includes / inclut / einschließlich / include / inclui / incluye <i>S. salivarius</i> and / et / und / e / y <i>S. vestibularis</i>)	/ inclui / incluyee <i>S. crista</i> , <i>S. gordonii</i> , <i>S. parasanguis</i> and / et / und / e / y <i>S. sanguis</i>
<i>Streptococcus mitis</i> group / groupe / Gruppe / gruppo / grupo do / grupo (includes / inclut / einschließlich / include / inclui / incluye <i>S. mitis</i> and / et / und / e / y <i>S. oralis</i>)	<i>Streptococcus oralis</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>	<i>Streptococcus sobrinus</i>
<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Streptococcus parasanguis</i>	<i>Streptococcus sanguis</i> group / groupe / Gruppe / gruppo / grupo do / grupo (includes / inclut / einschließlich / include	<i>Streptococcus uberis</i>
<i>Streptococcus mutans</i> group / groupe / Gruppe / gruppo / grupo do / grupo (includes / inclut / einschließlich / include	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Streptococcus vestibularis</i>
	<i>Streptococcus porcinius</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>	<i>Turicella otitidis</i> ¹

KEY: 1 = These taxa have fewer than 10 unique BBL Crystal profiles in the current database / Ces taxa ont <10 profils BBL Crystal spécifiques dans la base de données actuelle / Diese Taxa haben <10 einzigartige **BD BBL Crystal** Profile in der gegenwärtigen Datenbank / Queste unità tassonomiche hanno <10 profili **BD BBL Crystal** specifici nel 'database' attuale / Estes grupos apresentam menos de 10 perfis únicos **BD BBL Crystal** na base de dados actual / Estos grupos taxonómicos tienen <10 números de perfil **BD BBL Crystal** únicos en la base de datos actual.

Table 2 / Tableau 2 / Tabelle 2 / Tabella 2 / Quadro 2 / Tabla 2

Principles of Tests Employed in the BD BBL™ Crystal™ GP ID System / Principes des tests employés dans le système BD BBL Crystal GP ID / Im BD BBL Crystal GP-ID-System angewandte Verfahrensprinzipien / Principi dei test utilizzati dal sistema BD BBL Crystal GP ID / Principios dos Testes Usados no Sistema BD BBL Crystal GP ID / Principios de las pruebas usadas en el sistema BD BBL Crystal GP ID

Panel Location / Pos. sur panel / Panel-Position / Posizione nel pannello / Localização no Painel / Posición en el panel	Test Feature / Caractéristiques du test / Testsubstrat / Caratteristica del test / Característica do Teste / Característica de la prueba	Code / Codice / Código	Principle (Reference) / Principe (référence) / Prinzip (Literaturnachweis) / Principio (riferimento) / Princípio (Referência) / Principio (Referencia)
4A	Fluorescent negative control Contrôle négatif fluorescent Fluoreszierende negative Kontrolle Controllo negativo fluorescente Controlo negativo da fluorescência Control fluorescente negativo	FCT	Control to standardize fluorescent substrate results. / Contrôle pour standardiser les résultats des substrats fluorescents. / Kontrolle zur Standardisierung defluoreszierenden Substratergebnisse. / Controllo per standardizzare i risultati del substrato fluorescente. / Controllo para padronização dos resultados de substrato com fluorescência / Control para estandarizar los resultados del substrato fluorescente.
2A	4MU-β-D-glucoside / Glukosid / glucósido	FGC	
1A	L-valine / Valin / valina-AMC	FVA	
4B	L-phenylalanine-AMC L-phénylalanine-AMC L-Phenylalanin-AMC L-fenilalanina-AMC	FPH	
2B	4MU-α-D-glucoside / Glukosid / glucósido	FGS	
1B	L-pyroglutamic acid-AMC results Acide L-pyroglutamique-AMC L-Pyroglutaminsäure-AMC L-acido piroglutamico-AMC L-ácido piroglutámico-AMC L-ácido piroglutámico-AMC	FPY	Enzymatic hydrolysis of the amide or glycosidic bond in the release of a fluorescent coumarin derivative. / L'hydrolyse enzymatique des liens amides ou glycosidiques libère un dérivé coumarinique fluorescent. / Enzymatische Hydrolyse der Amid- oder Glykosidbindungen setzt fluoreszierende Cumarinderivate frei. / L'idrolisi enzimatica del legame amidico o glicosidico causa il rilascio di un derivato cumarinico fluorescente. / A hidrólise enzimática da ligação amida ou glicosídica provoca a libertação de um derivado da cumarina fluorescente. / La hidrólisis enzimática del enlace amidico o glicosidico resulta en la producción de un derivado cumarinico fluorescente. ^{5,8,11,12,14,15}
4C	L-tryptophan / tryptophane Tryptophan / L-triptofano / triptófano-AMC	FTR	
2C	L-arginine / Arginin / arginina-AMC	FAR	
1C	4MU-N-acetyl-β-D-glucosaminide/ 4MU-N-acetyl-β-D-glucosaminide/ 4MU-N-Azetyl-β-D-Glu kosaminid/ 4MU-N-acetil-β-D-glucosaminide/ 4MU-N-acetyl-β-D-glicosaminida 4MU-N-acetil-β-D-glucosaminida	FGA	
4D	4MU-phosphate / Phosphat / fosfato	FHO	
2D	4MU-β-D-glucuronide / Glukuronid / glucurónido	FGN	
1D	L-isoleucine / Isoleucin / isoleucina / isoleucina-AMC	FIS	

(...continued...)

Panel Location / Pos. sur panel / Panel-Position / Posizione nel pannello / Localização no Painel / Posición en el panel	Test Feature Caractéristiques du test Testsubstrat Caratteristica del test Característica de Teste Característica de la prueba	Code Codice Código	Principle (Reference) Principe (référence) Prinzip (Literaturnachweis) Principio (riferimento) Princípio (Referência) Principio (Referencia)
4E	Trehalose / Tréhalose / Trealosio / Trehalosa	TRE	Utilization of carbohydrate results in lower pH and change in indicator (Phenol red). / La métabolisation des carbohydrates entraîne une baisse du pH, ce qui fait virer l'indicateur coloré (rouge de phénol). / Die Verwendung von Kohlenhydrat resultiert in niedrigeren pH-Werten und einem Indikatorumschlag (Phenolrot). / L'utilizzo del carboidrato fa abbassare il pH e cambiare colore all'indicatore (rosso fenolo). / A utilização dos hidratos de carbono origina a diminuição do pH e a alteração do indicador (Vermelho de fenol). / La utilización de carbohidratos resulta en una caída del pH y un cambio en el indicador (rojo de fenol). ^{1,2,3,4,7,16}
2E	Lactose / Lattosio / Lactosa	LAC	
1E	Methyl- α & β -glucoside / Méthyl- α & β -glucoside / Methyl α & β - Glukosid / Metil- α & β -glucoside / Metil- α y β -glucósido	MAB	
4F	Sucrose / Saccharose / Saccarosio / Sacarose / Sacarosa	SUC	
2F	Mannitol / Mannitolo / Manitol	MNT	
1F	Maltotriose / Maltotriosio / Maltotriosa	MTT	
4G	Arabinose / Arabinosio / Arabinosa	ARA	
2G	Glycerol / Glycérol / Glycerin / Glicerolo / Glicerol	GLR	
1G	Fructose / Fruktose / Fruttosio / Frutose / Fructosa	FRU	
4H	p-nitrophenyl- β -D-glucoside p-nitrophényl- β -D-glucoside p-Nitrophenyl- β -D-Glukosid p-nitrofenil- β -D-glucoside p-nitrofenil- β -D-glucósido	BGL	Enzymatic hydrolysis of the colorless aryl substituted glycoside releases yellow p-nitrophenol. / L'hydrolyse enzymatique du substrat glycoside incolore, substitué par un radical aryl, libère du p-nitrophénol jaune. / Enzymatische Hydrolyse des farblosen arylsubstituierten Glykosids setzt gelbes p-Nitrophenol frei. / L'idrolisi enzimatica del glicoside incolore sostituito dall'arile rilascia p-nitrofenolo di colore giallo. / A hidrólise enzimática do glicosídeo substituído por aril incolor liberta o p-nitrofenol amarelo. / La hidrólisis enzimática del glicosídeo incoloro arilo substituído resulta en un p-nitrofenol amarillo. ^{5,9,12}
2H	p-nitrophenyl- β -D-cellobioside p-nitrophényl- β -D-cellobioside p-Nitrophenyl- β -D-Cellobiosid p-nitrofenil- β -D-cellobioside p-nitrofenil- β -D-celobiósido	PCE	Enzymatic hydrolysis of the colorless amide substrate releases yellow p-nitroaniline. / L'hydrolyse enzymatique du substrat amide incolore libère de la p-nitroaniline jaune. / Enzymatische Hydrolyse des farblosen Amidsubstrats setzt gelbes p-Nitroanilin frei. / L'idrolisi enzimatica del substrato amidico incoloro rilascia p-nitroanilina di colore giallo. / A hidrólise enzimática do substrato amida incolor liberta a p-nitroanilina de cor amarela. / La hidrólisis enzimática del sustrato amidico incoloro resulta en una p-nitroanilina amarilla. ^{5,9,12}
1H	Proline & Leucine-p-nitroanilide Nitroanilide proline & leucine Prolin & Leucin-p-Nitroanilid Prolina & Leucina-p-nitroanilide Prolina & Leucina-p-nitroanilido Prolina y Leucina-p-nitroanilida	PLN	Enzymatic hydrolysis of the colorless aryl substituted glycoside releases yellow p-nitrophenol. / L'hydrolyse enzymatique du substrat glycoside incolore, substitué par un radical aryl, libère du p-nitrophénol jaune. / Enzymatische Hydrolyse des farblosen arylsubstituierten Glykosids setzt gelbes p-Nitrophenol frei. / L'idrolisi enzimatica del glicoside incolore sostituito dall'arile rilascia p-nitrofenolo di colore giallo. / A hidrólise enzimática do glicosídeo substituído por aril incolor liberta o p-nitrofenol amarelo. / La hidrólisis enzimática del glicosídeo incoloro arilo substituído resulta en un p-nitrofenol amarillo. ^{5,9,12}
4I	p-nitrophenyl-phosphate p-nitrophényl-phosphate p-Nitrophenyl-Phosphat p-nitrofenil-fosfato	PHO	Enzymatic hydrolysis of the colorless aryl substituted glycoside releases yellow p-nitrophenol. / L'hydrolyse enzymatique du substrat glycoside incolore, substitué par un radical aryl, libère du p-nitrophénol jaune. / Enzymatische Hydrolyse des farblosen arylsubstituierten Glykosids setzt gelbes p-Nitrophenol frei. / L'idrolisi enzimatica del glicoside incolore sostituito dall'arile rilascia p-nitrofenolo di colore giallo. / A hidrólise enzimática do glicosídeo substituído por aril incolor liberta o p-nitrofenol amarelo. / La hidrólisis enzimática del glicosídeo incoloro arilo substituído resulta en un p-nitrofenol amarillo. ^{5,9,12}
2I	p-nitrophenyl- α -D-maltoside p-nitrophényl- α -D-maltoside p-Nitrophenyl- α -D-Maltosid p-nitrofenil- α -D-maltoside p-nitrofenil- α -D-maltósido	PAM	
1I	o-nitrophenyl- β -D-galactoside (ONPG) & p-nitrophényl- α -D-galactoside / o-nitrophényl- β -D-galactoside (ONPG) & p-nitrophényl- α -D-galactoside / o-Nitrophenyl- β -D-Galaktosid (ONPG) & p-Nitrophenyl- α -D-Galaktosid / o-nitrofenil- β -D-galattoside (ONPG) & p-nitrofenil- α -D-galattoside / o-nitrofenil- β -D-galactósido (ONPG) y p-nitrofenil- α -D-galactósido	PGO	

Panel Location / Pos. sur panel / Panel-Position / Posizione nel pannello / Localização no Painel / Posición en el panel	Test Feature Caractéristiques du test Testsubstrat Caratteristica del test Característica do Teste Característica de la prueba	Code Codice Código	Principle (Reference) Principe (référence) Prinzip (Literaturnachweis) Principio (riferimento) Princípio (Referência) Principio (Referencia)
4J	Urea Urée Harnstoff Ureia	URE	Hydrolysis of urea and the resulting ammonia change the pH indicator color (Bromthymol blue). / L'hydrolyse de l'urée et l'ammoniac qui en résulte fait virer l'indicateur coloré du pH (bleu de bromothymol). / Hydrolyse des Harnstoffs und der sich daraus bildende Ammoniak verursachen einen Farbumschlag des pH-Indikators (bromthymolblau). / L'idrolisi dell'urea e l'ammoniaca risultante fanno cambiare colore all'indicatore del pH (blu di bromotimolo). / A hidrólise da ureia e a amónia resultante alteram a cor do indicador de pH (Azul de bromotimol). / La hidrólisis de la urea y el amonio que resulta cambian el color del indicador de pH (azul de bromotimol). ^{2,6,10}
2J	Esculin Esculine Eskulin Esculina	ESC	Hydrolysis of esculin results in a black precipitate in the presence of ferric ion. / L'hydrolyse de l'esculine donne un précipité noir en présence des ions ferriques. / Hydrolyse des Eskulins ergibt ein schwarzes Präzipitat in Anwesenheit von Eisen-(III)-Ionen. / L'idrolisi dell'esculina dà luogo a precipitato nero in presenza de ione ferrico. / Na presença do ião férrico, a hidrólise da escolina produz um precipitado preto. / La hidrólisis de la esculina en la presencia de ion férrico resulta en un precipitado negro. ¹⁰
1J	Arginine Arginin Arginina	ARG	Utilization of arginine results in pH rise and change in the color of the indicator (Bromcresol purple). / La métabolisation de l'arginine entraîne une hausse du pH, ce qui fait virer l'indicateur coloré (pourpre de bromocrésol). / Die Verwendung von Arginin führt zu höherem pH-Wert und einem Farbumschlag des Indikators (bromkresolviolett). / L'utilizzo di arginina fa alzare il pH e cambiare colore all'indicatore (porpora di bromocresolo). / A utilização de arginina origina um aumento do pH e a alteração de cor do indicador (Violeta de bromocresol). / La utilización de la arginina resulta en una subida del pH y un cambio en el color del indicador (púrpura de bromocresol). ²

Table 3 / Tableau 3 / Tabelle 3 / Tabella 3 / Quadro 3 / Tabla 3

Reagents used in the BBL Crystal™ GP ID System / Réactifs utilisés dans le système BBL Crystal GP ID / Imi BBL Crystal GP ID-System verwendete Reagenzien / Reagenti utilizzati nel sistema BBL Crystal GP ID / Reagentes utilizados no Sistema BBLCrystal GP ID / Reactivos usados en el sistema BBL Crystal GP ID

Panel Location / Pos. sur panel / Panel-Position / Posizione nel pannello / Localização no Painel / Posición en el panel	Substrate / Substrat / Substrato / Tampalo	Code / Codice / Código	Pos.	Neg. / Neg.	Active Ingredients / Réactifs / Bestandteile / Ingredienti attivi / Principios activos / Ingredientes activos	Approx. Amt. (g/L) / Quantité approx. (g/L) / Ungef. Menge (g/L) / Qtd. approx. (g/L) / Qtd. Aprox. (g/L) / Cantidad aprox. (g/L)
4A	Fluorescent negative control Contrôle négatif fluorescent Fluoreszierende negative Kontrolle Controllo negativo fluorescente Control negativo da fluorescência Control fluorescente negativo	FCT	nia / n/d / nicht / zutreffend	nia / n/d / nicht / zutreffend	Fluorescent coumarin derivative Dérivé coumarinique fluorescent Fluoreszierendes Coumarinderivat Derivato coumarinico fluorescente Derivado da cumarina fluorescente Derivado coumarínico fluorescente	51
2A	4MU-β-D-glucoside / Glukosid / glucósido	FGC	nia / n/d / nicht / zutreffend	blue fluorescence >FCT well fluorescence blue >puits FCT blau fluoreszenz >FCT Vertiefung fluorescência blu >pozzetto FCT fluorescência azul >poço FCT Fluorescência azul >poçillo FCT	4MU-β-D-glucoside / Glukosid / glucósido	51
1A	L-valine / Valin / valina-AMC	FVA	blue fluorescence >FCT well fluorescence blue >puits FCT blau fluoreszenz >FCT Vertiefung fluorescência blu >pozzetto FCT fluorescência azul >poço FCT Fluorescência azul >poçillo FCT	blue fluorescence >FCT well fluorescence blue >puits FCT blau fluoreszenz >FCT Vertiefung fluorescência blu >pozzetto FCT fluorescência azul >poço FCT Fluorescência azul >poçillo FCT	L-valine / Valin / valina-AMC	51
4B	L-phenylalanine-AMC L-phenylalanine-AMC L-phenylalanin-AMC L-fenilalanina-AMC	FPH	blue fluorescence >FCT well fluorescence blue >puits FCT blau fluoreszenz >FCT Vertiefung fluorescência blu >pozzetto FCT fluorescência azul >poço FCT Fluorescência azul >poçillo FCT	blue fluorescence >FCT well fluorescence blue >puits FCT blau fluoreszenz >FCT Vertiefung fluorescência blu >pozzetto FCT fluorescência azul >poço FCT Fluorescência azul >poçillo FCT	L-phenylalanine-AMC L-phenylalanine-AMC L-phenylalanin-AMC L-fenilalanina-AMC	51
2B	4MU-α-D-glucoside / Glukosid / glucósido	FGS	blue fluorescence >FCT well fluorescence blue >puits FCT blau fluoreszenz >FCT Vertiefung fluorescência blu >pozzetto FCT fluorescência azul >poço FCT Fluorescência azul >poçillo FCT	blue fluorescence >FCT well fluorescence blue >puits FCT blau fluoreszenz >FCT Vertiefung fluorescência blu >pozzetto FCT fluorescência azul >poço FCT Fluorescência azul >poçillo FCT	4MU-α-D-glucoside / Glukosid / glucósido	51
1B	L-pyroglutamic acid-AMC Acide L-pyroglutamique-AMC L-Pyroglutaminsäure-AMC L-acido pirroglutámico-AMC L-ácido pirroglutámico-AMC	FPY	blue fluorescence >FCT well fluorescence blue >puits FCT blau fluoreszenz >FCT Vertiefung fluorescência blu >pozzetto FCT fluorescência azul >poço FCT Fluorescência azul >poçillo FCT	blue fluorescence >FCT well fluorescence blue >puits FCT blau fluoreszenz >FCT Vertiefung fluorescência blu >pozzetto FCT fluorescência azul >poço FCT Fluorescência azul >poçillo FCT	L-pyroglutamic acid-AMC Acide L-pyroglutamique-AMC L-Pyroglutaminsäure-AMC L-acido pirroglutámico-AMC L-ácido pirroglutámico-AMC	51

(...continued...)

(...continued...)

Table 3 / Tableau 3 / Tabelle 3 / Tabella 3 / Quadro 3 / Tabla 3

Panel Location / Pos. sur panel / Panel-Position / Posizione nel pannello / Localização no Painel / Posición en el panel	Substrate Substrat Substrato Tampão	Code Codigo Pos. Codigo	Neg. / Nég.	Active Ingredients Réactifs Reaktive Bestandteile Ingredienti attivi Principios activos Ingredientes activos	Approx Amt. (g/L) Quantité approx. (g/L) Ungef. Menge (g/L) Qtá approx. (g/L) Qtd. Aprox. (g/L) Cantidad aprox. (g/L)
4C	L-tryptophan-AMC L-tryptophane-AMC L-Tryptophan-AMC L-triptofano-AMC L-triptófano-AMC	FTR	blue fluorescence >FCT well fluorescence bleue >puits FCT blauwe Fluoreszenz >FCT Vertiefung fluorescenza blu >pozzetto FCT fluorescência azul >poço FCT Fluorescencia azul >poçillo FCT	L-tryptophan-AMC L-tryptophane-AMC L-Tryptophan-AMC L-triptofano-AMC L-triptófano-AMC	≤1
2C	L-arginine / Arginin / arginina-AMC	FAR	blue fluorescence >FCT well fluorescence bleue >puits FCT blauwe Fluoreszenz >FCT Vertiefung fluorescenza blu >pozzetto FCT fluorescência azul >poço FCT Fluorescencia azul >poçillo FCT	L-arginine / Arginin / arginina-AMC	≤1
1C	4MU-N-acetyl-β-D-glucosaminide 4MU-N-acétyl-β-D-glucosaminide 4MU-N-Azetyl-β-D-Glukosaminid 4MU-N-acetil-β-D-glucosaminide 4MU-N-acetyl-β-D-glucosaminida 4MU-N-acetil-β-D-glucosaminida	FGA	blue fluorescence >FCT well fluorescence bleue >puits FCT blauwe Fluoreszenz >FCT Vertiefung fluorescenza blu >pozzetto FCT fluorescência azul >poço FCT Fluorescencia azul >poçillo FCT	4MU-N-acetyl-β-D-glucosaminide 4MU-N-acétyl-β-D-glucosaminide 4MU-N-Azetyl-β-D-Glukosaminid 4MU-N-acetil-β-D-glucosaminide 4MU-N-acetyl-β-D-glucosaminida 4MU-N-acetil-β-D-glucosaminida	≤1
4D	4MU-phosphate / Phosphat / fosfato	FHO	blue fluorescence >FCT well fluorescence bleue >puits FCT blauwe Fluoreszenz >FCT Vertiefung fluorescenza blu >pozzetto FCT fluorescência azul >poço FCT Fluorescencia azul >poçillo FCT	4MU-phosphate / Phosphat / fosfato	≤1
2D	4MU-β-D-glucuronide 4MU-β-D-Glukuronid 4MU-β-D-glucuronide 4MU-β-D-glucurónido	FGN	blue fluorescence >FCT well fluorescence bleue >puits FCT blauwe Fluoreszenz >FCT Vertiefung fluorescenza blu >pozzetto FCT fluorescência azul >poço FCT Fluorescencia azul >poçillo FCT	4MU-β-D-glucuronide 4MU-β-D-Glukuronid 4MU-β-D-glucuronide 4MU-β-D-glucurónido	≤1
1D	L-isoleucine / Isoleucin / isoleucina-AMC	FIS	blue fluorescence >FCT well fluorescence bleue >puits FCT blauwe Fluoreszenz >FCT Vertiefung fluorescenza blu >pozzetto FCT fluorescência azul >poço FCT Fluorescencia azul >poçillo FCT	L-isoleucine / Isoleucin / isoleucina-AMC	≤1

(...continued...)

(...continued...)

Table 3 / Tableau 3 / Tabela 3 / Quadro 3 / Tabla 3

Panel Location / Pos. sur panel / Panel-Position / Posizione nel pannello / Localização no Painel / Posición en el panel	Substrate Substrat Substrato Tampão	Code Código Pos. Código	Neg. / Nég.	Active Ingredients Réactifs Reaktive Bestandteile Ingredienti attivi Principios activos Ingredientes activos	Approx Amt. (g/L) Quantité approx. (g/L) Ungfer. Menge (g/L) Qtá approx. (g/L) Qtd. Approx. (g/L) Cantidad aprox. (g/L)
4E	Trehalose / Tréhalose / Trealosio / Trehalosa	TRE	Orange/Red / Orange/Rouge / orange/rot / Arancio/rosso / Laranja/Vermelho / Naranja/rojo	Trehalose / Tréhalose / Trealosio / Trehalosa	≤300
2E	Lactose Lattosio Lactosa	LAC	Orange/Red / Orange/Rouge / orange/rot / Arancio/rosso / Dourado/Amarelo / Dorado/amarillo	Lactose Lattosio Lactosa	≤300
1E	Methyl-α & β-glucoside / Méthyl-α & β-glucoside / Methyl-α & β- Glukosid / Metil-α & β-glucoside / Metil-α y β-glucósido	MAB	Orange/Red / Orange/Rouge / orange/rot / Arancio/rosso / Dourado/Amarelo / Dorado/amarillo	Methyl-α & β-glucoside / Méthyl-α & β-glucoside / Methyl-α & β- Glukosid / Metil-α & β-glucoside / Metil-α y β-glucósido	≤300
4F	Sucrose / Saccharose / Saccarosio / Sacarose / Sacarosa	SUC	Orange/Red / Orange/Rouge / orange/rot / Arancio/rosso / Dourado/Amarelo / Dorado/amarillo	Sucrose / Saccharose / Saccarosio / Sacarose / Sacarosa	≤300
2F	Mannitol Mannitolo Manitol	MNT	Orange/Red / Orange/Rouge / orange/rot / Arancio/rosso / Dourado/Amarelo / Dorado/amarillo	Mannitol Mannitolo Manitol	≤300
1F	Maltotriose Maltobrioso Maltotriose Maltotriosa	MTT	Orange/Red / Orange/Rouge / orange/rot / Arancio/rosso / Laranja/Vermelho / Naranja/rojo	Maltotriose Maltobrioso Maltotriose Maltotriosa	≤300
4G	Arabinose Arabinosio Arabinosa	ARA	Orange/Red / Orange/Rouge / orange/rot / Arancio/rosso / Dourado/Amarelo / Dorado/amarillo	Arabinose Arabinosio Arabinosa	≤300
2G	Glycerol / Glycérol / Glyzerin / Glicerolo / Glicerol	GLR	Orange/Red / Orange/Rouge / orange/rot / Arancio/rosso / Dourado/Amarelo / Dorado/amarillo	Glycerol / Glycérol / Glyzerin / Glicerolo / Glicerol	≤300
1G	Fructose / Fruktose / Fruttosio / Fucose / Fructosa	FRU	Orange/Red / Orange/Rouge / orange/rot / Arancio/rosso / Laranja/Vermelho / Naranja/rojo	Fructose / Fruktose / Fruttosio / Fucose / Fructosa	≤300

(...continued...)

(...continued...)

Table 3 / Tableau 3 / Tabela 3 / Tabella 3 / Quadro 3 / Tabla 3

Panel Location / Pos. sur panel / Panel-Position / Posizione nel pannello / Localização no Painel / Posición en el panel	Substrate Substrat Substrato	Code Codice Codigo	Neg. / Nég.	Active Ingredients Réactifs Reaktive Bestandteile Ingredienti attivi Principios activos Ingredientes activos	Approx Amt. (g/L) Quantité approx. (g/L) Ungfer. Menge (g/L) Qtá approx. (g/L) Qty. Approx. (g/L) Cantidad approx. (g/L)
4H	p-n-p-β-D-glucoside / Glukosid / glucosido	BGL	Yellow / Jaune / gelb / Giallo / Amarelo / Amarillo	Colorless / Incolore / farblos / Incolore / Incolor	p-n-p-β-D-glucoside / Glukosid / glucosido ≤10
2H	p-n-p-β-D-cellobioside / Cellobiosid / cellobiósido	PCE	Yellow / Jaune / gelb / Giallo / Amarelo / Amarillo	Colorless / Incolore / farblos / Incolore / Incolor	p-n-p-β-D-cellobioside / Cellobiosid / cellobiósido ≤10
1H	Prolina & Leucina-p-nitroanilide Nitroanilide p-proline & leucine Prolin & Leucin-p-Nitroanilid Prolina & Leucina-p-nitroanilido Prolina & Leucina-p-nitroanilido Prolina y Leucina-p-nitroanilida	PLN	Yellow / Jaune / gelb / Giallo / Amarelo / Amarillo	Colorless / Incolore / farblos / Incolore / Incolor	Prolina & Leucine-p-nitroanilide Nitroanilide p-proline & leucine Prolin & Leucin-p-Nitroanilid Prolina & Leucina-p-nitroanilido Prolina & Leucina-p-nitroanilido Prolina y Leucina-p-nitroanilida ≤10
4I	p-n-p-phosphate / Phosphat / fosfato	PHO	Yellow / Jaune / gelb / Giallo / Amarelo / Amarillo	Colorless / Incolore / farblos / Incolore / Incolor	p-n-p-phosphate / Phosphat / fosfato ≤10
2I	p-n-p-α-D maltoside / maltosid / maltósido	PAM	Yellow / Jaune / gelb / Giallo / Amarelo / Amarillo	Colorless / Incolore / farblos / Incolore / Incolor	p-n-p-α-D maltoside / maltosid / maltósido ≤10
1I	ONPG & p-n-p-α-D galactoside / Galaktosid / galattoside / galactósido	PGO	Yellow / Jaune / gelb / Giallo / Amarelo / Amarillo	Colorless / Incolore / farblos / Incolore / Incolor	ONPG & p-n-p-α-D galactoside / Galaktosid / galattoside / galactósido ≤10
4J	Urea Urée Harnstoff Ureia	URE	Aqua/Blue / Bleu/Bleu-vert / aquamarin/blau / Verde acqua/blu / Aqua/Azul / Verde azulado/azul	Yellow/Green / Jaune/Vert / gelb/grün / Giallo/verde / Amarelo/Verde / Amarillo/verde	Urea Urée Harnstoff Ureia ≤50
2J	Esculina / Esculine / Eskulin / Esculina	ESC	Brown/Maroon / Brun/Bordeaux / kastanien/braun / Bruno/Marone / Castanho/Bordeaux Pardofrinjo parduzco	Clear/Tan / Clair/Ocre / klar/gelbbraun / Chiaro/ammio / Transparente/Bronzeado Incolore/café claro	Esculin / Esculine / Eskulin / Esculina ≤25
1J	Arginine / Arginin / Arginina	ARG	Purple / Violet / lila / Porpora / Roxo / Púrpura	Yellow/Gray / Jaune/Gris / gelb/grau / Giallo/grigio / Amarelo/Cincento / Amarillo/gris	Arginine / Arginin / Arginina ≤200

Table 4 / Tableau 4 / Tabelle 4 / Tabella 4 / Quadro 4 / Tabla 4

Quality Control Chart for BD BBL™ Crystal™ GP ID System After 18–20 Hours Incubation from TSA II or Columbia Blood Agar / Tableau de contrôle de qualité du système BD BBL Crystal GP ID Après 18–20 heures d'incubation à partir des géloses TSA II ou des géloses de sang Columbia / Qualitätskontroll-Tabelle für das BD BBL Crystal GP-ID System Nach 18- bis 20-stündiger Inkubation auf TSA II oder Columbia Blutagar / Prospetto del controllo qualità per il sistema BD BBL Crystal GP ID dopo 18–20 ore d'incubazione su agar TSA II o agar sangue Columbia / Gráfico de Controle de Qualidade para o Sistema BD BBL Crystal GP ID Após 18 a 20 Horas de Incubação de um TSA II ou Agar de Sangue Columbia / Plantilla del control de calidad para el sistema BD BBL Crystal GP ID después de 18–20 horas de incubación en TSA II o agar sangre Columbia

Panel Location/ Pos. sur panel / Panel-Position / Posizione nel pannello / Localização no Painel / Posición en el panel	Substrate / Substrat / Substrato / Tampão	Code Codice Código	<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615
4A	Fluorescent negative control / Contrôle négatif fluorescent / Fluoreszierende negative Kontrolle / Controllo negativo fluorescente / Controlo negativo da fluorescência / Control fluorescente negativo	FCT	–
2A	4MU-β-D-glucoside / Glukosid / glucósido	FGC	–
1A	L-valine / Valin / valina-AMC	FVA	+
4B	L-phenylalanine / phénylalanine / Phenylalanin / fenilalanina-AMC	FPH	+
2B	4MU-α-D-glucoside / Glukosid / glucósido	FGS	+
1B	L-pyroglutamic acid-AMC / Acide L-pyroglutamique-AMC / L-Pyroglutaminsäure-AMC / L-acido piroglutamico-AMC / L-ácido piroglutâmico-AMC / L-ácido piroglutámico-AMC	FPY	+
4C	L-tryptophan / tryptophane / Tryptophan / triptofano / triptófano-AMC	FTR	+
2C	L-arginine / Arginin / arginina-AMC	FAR	+
1C	4MU-N-acetyl-β-D-glucosaminide / 4MU-N-acétyl-β-D-glucosaminide / 4MU-N-Azetyl-β-D-Glucosaminid / 4MU-N-acetil-β-D-glucosaminide / 4MU-N-acetyl-β-D-glicosaminida / 4MU-N-acetil-β-D-glucosaminida	FGA	–
4D	4MU-phosphate / Phosphat / fosfato	FHO	+
2D	4MU-β-D-glucuronide / Glukuronid / glucurónido	FGN	–
1D	L-isoleucine / Isoleucin / isoleucina-AMC	FIS	+
4E	Trehalose / Tréhalose / Trealosio / Trehalosa	TRE	+
2E	Lactose / Lattosio / Lactosa	LAC	+
1E	Methyl-α & β-glucoside / Méthyl-α & β-glucoside / Methyl-α & β-Glukosid / Metil-α & β-glucoside / Metil-α y β-glucósido	MAB	+
4F	Sucrose / Saccharose / Saccarosio / Sacarose / Sacarosa	SUC	+
2F	Mannitol / Mannitolo / Manitol	MNT	–
1F	Maltotriose / Maltotrioso / Maltotriosia	MTT	+
4G	Arabinose / Arabinosio / Arabinosa	ARA	–
2G	Glycerol / Glycérol / Glyzerin / Glicerolo / Glicerol	GLR	+
1G	Fructose / Fruktose / Fruttosio / Frutose / Fructosa	FRU	+
4H	p-n-p-β-D-glucoside / Glukosid / glucósido	BGL	V
2H	p-n-p-β-D-cellobioside / Cellobiosid / celobiósido	PCE	–
1H	Proline & Leucine-p-nitroanilide / Nitroanilide p-proline & leucine / Prolin & Leucin-p-Nitroanilid / Prolina & Leucina-p-nitroanilide / Prolina & Leucina-p-nitroanilido / Prolina y Leucina-p-nitroanilida	PLN	+
4I	p-n-p-phosphate / Phosphat / fosfato	PHO	V
2I	p-n-p-α-D-maltoside / Maltosid / maltósido	PAM	–*
1I	ONPG & p-n-p-α D-galactoside / Galaktosid / galattoside / galactósido	PGO	–
4J	Urea / Urée / Harnstoff / Ureia	URE	–
2J	Esculin / Esculine / Eskulin / Esculina	ESC	–
1J	Arginine / Arginin / Arginina	ARG	V

* = variable when tested from Columbia Blood Agar / variable à partir de la gélose de sang Columbia / variabel auf Columbia-Blutagar /
variable quando testato su agar sangue Columbia / variável quando testado de Agar de Sangue Columbia / variable cuando se prueba en
agar sangre Columbia.

Table 5 / Tableau 5 / Tabela 5 / Tabella 5 / Quadro 5 / Tabla 5

Additional Quality Control Strains for BD BBL™Crystal™ GP ID System After 18 - 20 Hours Incubation from TSA II or Columbia Blood Agar / Tableau supplémentaire de contrôle de qualité du système BD BBL Crystal GP ID après 18-20 heures d'incubation à partir des géloses de sang Columbia / Zusätzliche Qualitätskontroll-Stämme für das BD BBL Crystal GP ID System nach 18- bis 20-stündiger Inkubation auf TSA II oder Columbia Blutagar / Cepici supplementari di controllo qualità per il sistema BBLCrystal GP ID dopo 18-20 ore d'incubazione su agar TSA II o agar sangue Columbia / Estrípes de Control de Qualidade Adicionais para o Sistema BD BBL Crystal GP ID Após 18 a 20 Horas de Incubação de um TSA II ou Agar de Sangue Columbia / Cepas adicionales del control de calidad para el sistema BD BBL Crystal GP ID después de 18-20 horas de incubación en TSA II o agar sangre Columbia

Panel Location / Pos. sur panel / Panel-Position / Posizione nel pannello / Localização no Painel / Posición en el panel	Substrate / Substrat / Substrato	Code / Codice / Código	Staphylococcus epidermidis ATCC 12228	Bacillus brevis ATCC 8246	Enterococcus faecalis ATCC 19433	Staphylococcus xylosum ATCC 35033
4A	Fluorescent negative control / Contrôle négatif fluorescent / Fluoreszierende negative Kontrolle / Controllo negativo fluorescente / Controlo negativo da fluorescência / Control fluorescente negativo	FCT	-	-	-	-
2A	4MU-β-D-glucoside / Glukosid / glucósido	FGC	-	+	+	-
1A	L-valine / Valin / valina-AMC	FVA	-	V	-	-
4B	L-phenylalanine / phénylalanine / Phenylalanin / fenilalanina-AMC	FPH	-	+	+	-
2B	4MU-α-D-glucoside / Glukosid / glucósido	FGS	-*	+	+	-
1B	L-pyroglutamic acid-AMC / Acide L-pyroglutamique-AMC / L-Pyroglutaminsäure-AMC / L-acido piroglutamico-AMC / L-ácido piroglutámico-AMC / L-ácido piroglutámico-AMC	FPY	-	+	+	V
4C	L-tryptophan-AMC / L-tryptophane-AMC / L-Tryptophan-AMC / L-triptofano-AMC / L-triptófano-AMC	FTR	-	+	+	V
2C	L-arginine / Arginin / arginina-AMC	FAR	V	+	-	-
1C	4MU-N-acetyl-β-D-glucosaminide / 4MU-N-acetyl-β-D-glucosaminide / 4MU-N-Azetyl-β-D-Glucosaminid / 4MU-N-acetil-β-D-glucosaminide / 4MU-N-acetyl-β-D-glucosaminida / 4MU-N-acetil-β-D-glucosaminida	FGA	-	+	+	-
4D	4MU-phosphate / Phosphat / fosfato	FHO	+	V	V	+
2D	4MU-β-D-glucuronide / Glukuronid / glucurónido	FGN	-	-	-	+
1D	L-isoleucine / Isoleucin / isoleucina-AMC	FIS	-	V	-	-
4E	Trehalose / Tréhalose / Trealosio / Trehalosa	TRE	-	-	+	+
2E	Lactose / Laitosio / Lactosa	LAC	+	+	+	+
1E	Methyl-α & β-glucoside / Méthyl-α & β-glucoside / Metil-α & β-glucoside / Metil-α & β-glucósido	MAB	-	-	+	+
4F	Sucrose / Saccharose / Saccarosio / Sacarosa	SUC	+	-	+	+

* = variable when tested from Columbia Blood Agar / variable à partir de la gélose de sang Columbia / variabel auf Columbia-Blutagar / variabile quando testato su agar sangue Columbia / variável quando testado de Agar de Sangue Columbia / variabile cuando se prueba en agar sangre Columbia.

(...continued...)

(...continued...)

Table 5 / Tableau 5 / Tabelle 5 / Tabella 5 / Quadro 5 / Tabla 5

Panel Location / Pos. sur panel / Panel-Position / Posizione nel pannello / Localização no Painel / Posición en el panel	Substrate Substrat Substrato Tampão	Code Codice Código	Staphylococcus epidermidis ATCC 12228	Bacillus brevis ATCC 8246	Enterococcus faecalis ATCC 19433	Staphylococcus xylosus ATCC 35033
2F	Mannitol / Mannitolo / Manítol	MNT	-	-	+	+
1F	Maltotriose / Maltotrioso / Maltotriososa	MTT	+	-	+	V
4G	Arabinose / Arabinosio / Arabinosa	ARA	-	-	-	V
2G	Glycerol / Glicérol / Glycerol / Glicerol	GLR	+	-	+	+
1G	Fructose / Fruktose / Frutose / Fructosa	FRU	+	-	+	+
4H	p-n-p-β-D-glucoside / Glukosid / glucósido	BGL	-	V	+	+
2H	p-n-p-β-D-cellobioside / Cellobiosid / cellobióside	PCE	-	-	+	-
1H	Proline & Leucine-p-nitroanilide / Nitroanilide p-proline & leucine / Prolina y Leucin-p-Nitroanilid / Prolin & Leucine-p-nitroanilida / Prolina & Leucina-p-nitroanilido / Prolina y Leucina-p-nitroanilide	PLN	V	V	-	-
4I	p-n-p-phosphate / Phosphat / fosfato	PHO	V	V	V	+
2I	p-n-p-α-D-maltoside / Maltosid / maltósido / maltoside	PAM	-*	V	-	-*
1I	ONPG & p-n-p-α-D-galactoside / Galaktosid / galactósido / galactósido	PGO	V	-	-	V
4J	Urea / Urée / Harnstoff / Ureia	URE	+	V	V	+
2J	Esculin / Esculine / Eskulin / Esculina	ESC	-	V	+	-
1J	Arginine / Arginin / Arginina	ARG	V	+	+	V

* = variable when tested from Columbia Blood Agar / variable à partir de la gélose de sang Columbia / variabile quando testato su agar sangue Columbia / variável quando testado de Agar de Sangue Columbia / variable cuando se prueba en agar sangre Columbia.



Manufacturer / Производител / Výrobce / Fabrikant / Hersteller / Κατασκευαστής / Fabricante / Tootja / Fabricant / Proizvođač / Gyártó / Fabricatore / Акқарушы / Gamintojas / Ražotājs / Tilviker / Producent / Producător / Производител / Výrobca / Proizvođač / Tilverkare / Üretici / Виробник



Use by / Исполняйте до / Spøtbejuge do / Brug før / Venwendbar bis / Χρήση έως / Usar antes de / Kasutada enne / Date de péremption / Uprorjebiti do / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Дейин пайдалануу / Naudokite iki / Izljetit tldz / Houdbaar tot / Brukes for / Stosować do / YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month)
 ГТТТ-ММ-ДД / ГТТТ-ММ (ММ = края на месеца)
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)
 АААА-ММ-ДД / АААА-ММ (ММ = slutning af måned)
 JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende)
 ЕЕЕЕ-ММ-НН / ЕЕЕЕ-ММ (ММ = τέλος του μήνα)
 АААА-ММ-ДД / АААА-ММ (ММ = fin del mes)
 АААА-КК-РР / АААА-КК (КК = kuu lõpp)
 АААА-ММ-ЖЖ / АААА-ММ (ММ = fin du mois)
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj meseca)
 ЁЁЁЁ-НН-НН / ЁЁЁЁ-НН (НН = hónap utolsó napja)
 АААА-ММ-ГГ / АААА-ММ (ММ = fine mese)
 ЖОЖОК-АА-КК / ЖОЖОК-АА / (АА = айдын соңы)
 ММММ-ММ-ДД / ММММ-ММ (ММ = mēnesio pabaiga)
 GGGG-MM-DD/GGGG-MM (MM = mēneša beigās)
 JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand)
 АААА-ММ-ДД / АААА-ММ (ММ = slutten av månaden)
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)
 АААА-ММ-ДД / АААА-ММ (ММ = fim do mês)
 АААА-ЛЛ-ЗЗ / АААА-ЛЛ (ЛЛ = sfârșitul lunii)
 ГТТТ-ММ-ДД / ГТТТ-ММ (ММ = конец месяца)
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (ММ = koniec mesiacu)
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (ММ = kraj meseca)
 АААА-ММ-ДД / АААА-ММ (ММ = slutet av månaden)
 YYYY-AA-GG / YYYY-AA (AA = ayın sonu)
 РРРР-ММ-ДД / РРРР-ММ (ММ = кінець місяця)



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



Authorized Representative in the European Community / Оторизирани представител в Европейската общност / Autorizovaný zástupce pro Evropském společenství / Autoriseret representant i De Europæiske Fællesskaber / Autoriseret Vreter in der Europäischen Gemeinschaft / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Volitautud esindaja Euroopa Nõukogus / Representant autorisé pour la Communauté européenne / Autorizirani predstavnik u Evropskoj uniji / Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségekben / Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea / Европа қауымдастығындағы уәкілетті өкіл / Galotasis atstovas Europos Bendrijėje / Plinvarotais pārstāvis Eiropas Kopienā / Bevogede vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap / Autoriseret representant i EU / Autorizowane 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 / Ανυρτα Τορπυλίου Υεκιλλί Τεμισιλίσι / Уповноважений представник у країнах ЄС



In Vitro Diagnostic Medical Device / Медицински уред за диагностика ин витро / Lékářské zařízení určené pro diagnostiku in vitro / In vitro diagnostik medicinsk anordning / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / In vitro диагностикалык итрукциялык аспады / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / In vitro diagnostika meditsiniaparatuur / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medicinska romagala za In Vitro Diagnostiku / In vitro diagnostikai orvosi eszközök / Dispositivo medicale per diagnostica in vitro / Жасанды жагдайда жүргүзгөн медициналык диагностика аспабы / In vitro diagnostikos prietaisais / Medicīnas ierīces, ko lieto in vitro diagnostikā / Medisch hulpmiddel voor in-vitro diagnostiek / In vitro diagnostisk medicinsk utstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Dispositiv medical pentru diagnostic in vitro / Медицинский прибор для диагностики ин витро / Medicinska romčka na diagnostiku in vitro / Medicinski uređaj za in vitro dijagnostiku / Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik / In Vitro Dıyagnostik Tibbi Cihaz / Медицинский пристрій для діагностики ин витро



Temperature limitation / Температурни ограничения / Temperaturbegrensning / Temperaturbegrenzung / Temperaturbegrenzung / Περιορισμοί θερμοκρασίας / Limitación de temperatura / Temperaturu piirang / Limites de température / Dozvoljena temperatura / Hőmérsékleti határ / Limiti di temperatura / Temperaturu shекте / Laiquimo temperatūra / Temperatūras ierobežojumi / Temperaturliimiet / Temperaturbegrensning / Ograniczenie temperatury / Limites de temperatura / Limite de temperatură / Ограничение температуры / Ohraničenje teploty / Ograničenje temperature / Temperaturgräns / Sicaklık sinirlaması / 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 kod / Numéro de lot / Lot (kod) / Tétel száma (Lot) / Codice batch (lotta) / Топлама коды / Partijas numenis (LOT) / Partijas kods (lotiens) / Lot nummer / Batch-kode (part) / Kod partii (seria) / Código do lote / Cod de serie (Lot) / Код партии (lot) / Kód série (šarža) / Kod serije / Partnummer (Lot) / Parti Kodu (Lot) / Код партии



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 / Пайдалануу нускалманымен танышып алыңыз / Skaityti lietušijos instrukcijas / Skaiti lietošanas pamācību / Raadpleeg de gebruiksaanwijzing / Se i brugsanvisningen / Zobacz instrukcja użytkowania / Consultar as instruções de utilização / Consultati instrucțiunile de utilizare / Cm. ručodvoctvo na eksploataciju / Pozri Pokyny na používání / Pogledajte uputstvo za upotrebu / Se brugsanvisningen / Kullannim Taitmatlan! na başvurum / Див. інструкції за використання

Australian Sponsor:

Becton Dickinson Pty Ltd.
 4 Research Park Drive
 Macquarie University Research Park
 North Ryde, NSW 2113
 Australia



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



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