

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



8809711JAA(02)
2015-01

For Export Use Only

English: pages 1 – 5 Italiano: pagine 15 – 20
Français: pages 6 – 10 Español: páginas 20 – 24
Deutsch: Seiten 11 – 15

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 yhteys lähimpään BD:n edustajaan ohjeiden saamiseksi. / Kontaktiraj lokalnog predstavnika BD za upute. / A használati utasítást kérje a BD helyi képviselőtől. / Нұсқаулар үшін жергілікті BD өкілімен хабарласыңыз. / Lai saņemtu norādījumus, sazinieties ar vietējo BD pārstāvi. / Naudojimo instrukcijų teiraukitės vietos BD įgaliotojo atstovo. / Neem contact op met uw plaatselijke BD-vertegenwoordiger voor instructies. / Kontakt din lokale BD-representant for mer informasjon. / Aby uzyskać instrukcje użytkowania, skontaktuj się z lokalnym 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 ziskate 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™** Rapid Gram-Positive (RGP) 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** RGP ID panel, to detect enzymes that microbes use to metabolize various substrates.^{5,7,8,9,11,12,14,15}

The **BD BBL Crystal** RGP ID kit is comprised of (i) **BD BBL Crystal** RGP 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.¹⁸ Biochemical and enzymatic reaction patterns for the 29 **BD BBL Crystal** RGP ID substrates for a wide variety of microorganisms are stored in the **BD BBL Crystal** RGP 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** RGP 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** RGP ID panel contains 29 enzymatic and biochemical substrates. Refer to Table 3 for a list of active ingredients.

Precautions: *in vitro* Diagnostic

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 **BD BBL Crystal** ANR, GP, RGP, N/H Inoculum Fluid should be used with **BD BBL Crystal** RGP ID panel. On receipt, store the **BD BBL Crystal** RGP 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) 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 RGP ID Kit –

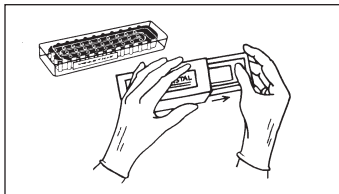
- 20 **BD BBL Crystal** RGP ID Panel Lids,
- 20 **BD BBL Crystal** Bases,
- 20 **BD BBL Crystal** ANR, GP, RGP, N/H ID IF Tubes. Each tube has approximately 2.3 ± 0.15 mL of Inoculum Fluid containing: KCl 7.5 g, CaCl_2 0.5 g, Tricine N-[2-Hydroxy-1, 1-bis (hydroxymethyl)methyl] glycine 0.895 g, purified water to 1000 mL.
- 2 incubation trays,
- 1 **BD BBL Crystal** RGP ID Report Pad.

Materials Required But Not Provided: Sterile cotton swabs (*do not use polyester swabs*), incubator (35 – 37 °C) non- CO_2 (40 – 60% humidity), McFarland No. 2 standard, **BD BBL Crystal** Panel Viewer, **BD BBL Crystal** ID System Electronic Codebook or **BD BBL Crystal** RGP Manual Codebook, and appropriate culture media.

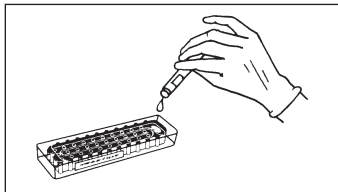
Also required are the necessary equipment and labware used for preparation, storage and handling of clinical specimens.

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

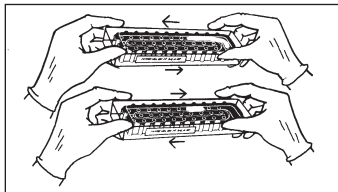
1. Remove lids from pouch. Discard desiccant. Once removed from the pouch, covered lids should be used within 1 h. Do not use the panel if there is no desiccant in the pouch.
2. Take an inoculum fluid tube and label with patient's specimen number. Using aseptic technique, with the tip of a sterile cotton 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 sec. The turbidity should be equivalent to a McFarland No. 2 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. 2 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. 2 standard. Remove the excess amount added to the tube with a sterile pipet 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.



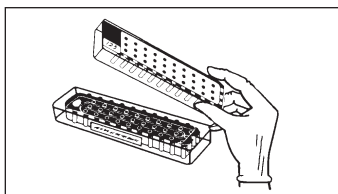
5. Take a base, and mark the patient's specimen number on the side wall.
6. Pour entire contents of the inoculum fluid tube into target area of the base.



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. Due to the high cell concentrations used in **BD BBL Crystal** RGP ID panels, the inoculum should be carefully rolled across the tracks to ensure a proper fill of all wells. Make sure there is no excess fluid between the wells before the lid is aligned.

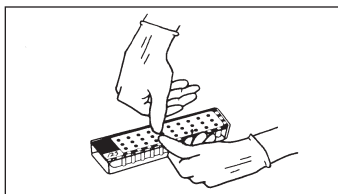


8. Align the lid so that the labeled end of the lid is on top of the target area of the base.

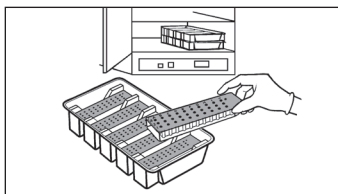


9. Push down until a slight resistance is felt. Place thumb on edge of lid towards middle of panel on each side and push downwards simultaneously until the lid snaps into place (listen for two "clicks").

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.



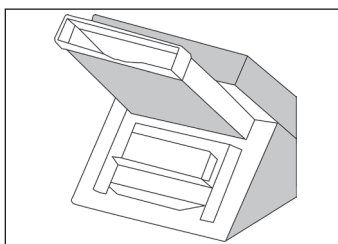
Incubation: Place inoculated panels in incubation trays. Ten panels can fit in one tray (5 rows of 2 panels). All panels should be incubated **face down** (larger windows facing up; label facing down) in a non-CO₂ incubator with 40 – 60% **humidity**. Trays should not be stacked more than two high during incubation. The incubation time for panels is **4 h** at 35 – 37 °C. **NOTE:** The incubator door should not be opened repeatedly during the incubation period (preferably less than 3 times). Panels 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** RGP Report Pad to record reactions.

- a. Read columns E thru J first, using the regular (white) light source.
- b. 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** ID System Electronic Codebook has been installed to obtain the identification. A manual codebook is also available. If a PC is not available contact, BD Diagnostics Technical Services for assistance with the identification.

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

1. Inoculate a panel with *Streptococcus pyogenes* ATCC™ 19615 per recommended procedure (refer to "Test Procedure").
2. Prior to incubation, let panel remain at room temperature for 1 min (not more than 2 min).
3. Read and record reactions with the aid of the panel viewer and color reaction chart.
4. If any of the wells (except 1J) are positive per color reaction chart (after 1 – 2 min), DO NOT USE PANELS from this lot. Contact BD Diagnostics Technical Services.
5. If all wells are negative, then incubate panel for 4 h at 35 – 37 °C.
6. Read panel with the panel viewer and color reaction chart; record reactions using the report pad.
7. Compare recorded reactions with those listed in Table 4. If discrepant results are obtained, confirm purity of quality control strain before contacting BD Diagnostics Technical Services.
8. The incubator door should not be opened repeatedly during the incubation period (preferably less than 3 times).

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

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

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

During clinical evaluations, interpretation errors were seen at one site with *Enterococcus faecium* and *Streptococcus mitis*. It is therefore recommended that identification of these two species be confirmed whenever the user finds it appropriate.

The **BD BBL Crystal** RGP 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** RGP ID System: **TSA II** or 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** RGP ID System is based on statistical use of specially designed tests and an exclusive database.

While **BD BBL Crystal** RGP 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.

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 three clinical laboratories, (total of three evaluations), the reproducibility of **BD BBL Crystal** RGP ID substrate (29) reactions was studied by replicate testing. The reproducibility of the individual substrate reactions ranged from 94.7% – 100%. The overall reproducibility of the **BD BBL Crystal** RGP ID panel was determined to be 99.4%.²⁰

Accuracy of Identification: The performance of **BD BBL Crystal** RGP ID System was compared to currently available commercial systems using **clinical isolates and stock cultures**. A total of three studies were conducted in three 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 604 total isolates tested from the studies, 550 (91.1%) were correctly identified (including isolates that required supplemental testing) by the **BD BBL Crystal** RGP Identification System. A total of 53 (8.8%) isolates were incorrectly identified, and a message of "No Identification" was obtained for one (0.2%) isolate.²⁰

AVAILABILITY

Cat. No.	Description	Cat. No.	Description
245150	BD BBL™ Crystal™ RGP Rapid 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.
245001	BD BBL™ Crystal™ ID System Electronic Codebook.	221261	BD BBL™ Trypticase™ Soy Agar with 5% Sheep Blood (TSA II), ctn. of 100.
245041	BD BBL™ Crystal™ Identification Systems Rapid Gram-Positive Manual Codebook.	212539	BD BBL™ Gram Stain Kit, pkg. of 4 x 250 mL bottles.

REFERENCES

1. Balows, A., W.J. Hausler, Jr., K.L. Hermann, H.D. Isenberg, and H.J. Shadomy (ed.). 1991. Manual of clinical microbiology, 5th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
2. 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.
3. Bronfenbrenner, J., and M.J. Schlesinger. 1918. A rapid method for the identification of bacteria fermenting carbohydrates. Am. J. Public Health. 8:922-923.
4. Cowan, S.T., and K.J. Steel. 1974. Manual for the identification of medical bacteria. 2nd ed. Cambridge University Press, Cambridge.
5. Edberg, S.C., and C.M. Konnick. 1986. Comparison of b-glucuronidase-based substrate systems for identification of *Escherichia coli*. J. Clin. Microbiol. 24:368-371.
6. Ferguson, W.W., and A.E. Hook. 1943. Urease activity of *Proteus* and *Salmonella* organisms. J. Lab. Clin. Med. 28:1715-1720.
7. Hartman, P.A. 1968. Miniaturized microbiological methods. Academic Press, New York.
8. Kamper, P., O. Rauhoff, and W. Dott. 1991. Glycosidase profiles of members of the family *Enterobacteriaceae*. J. Clin. Microbiol. 29:2877-2879.
9. Killian, M., and P. Bulow. 1976. Rapid diagnosis of *Enterobacteriaceae* 1: detection of bacterial glycosidases. Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sect. B. 84:245-251.
10. MacFaddin, J.F. 1980. Biochemical tests for identification of medical bacteria, 2nd ed. Williams & Wilkins, Baltimore.
11. 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 Becton Dickinson Microbiology Systems.

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 rapide des bactéries gram-positives

Français

APPLICATION

Le système **BD BBL Crystal** pour l'identification (ID) rapide des bactéries gram-positives (RGP) est une méthode d'identification miniaturisée utilisant des substrats chromogènes, fluorogènes et conventionnels modifiés. Il a pour but d'identifier les bactéries gram-positives aérobies 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 RGP 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 BBL Crystal RGP ID** est composée (i) de couvercles pour panels **BD BBL Crystal RGP 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. 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 RGP ID** obtenus pour une large gamme de microorganismes sont stockés dans la base de données **BD BBL Crystal RGP 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 RGP 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 RGP ID** contient 29 substrats enzymatiques et biochimiques. Se référer au tableau 3 pour une liste des ingrédients actifs.

Précautions : diagnostic *in vitro*

Après usage, tout le matériel contaminé incluant les gélules, les écouvillons, les tubes pour la solution de l'inoculum, 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 empilées 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 incubé 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** RGP ID.

Dès réception, conserver la trousse **BD BBL Crystal** RGP 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 de Soja **Trypticase** avec 5 % de sang de mouton (TSA) ou la gélose Columbia avec 5 % de sang de mouton (Columbia). L'utilisation de milieux sélectifs tels que la gélose d'alcool phényléthylrique avec 5 % de sang de mouton (PEA) ou la gélose de Columbia ANC avec 5 % de sang de mouton (ANC) 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 se situe entre 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** RGP ID –

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

20 bases **BD BBL Crystal**,

20 tubes de solution **BD BBL Crystal** ANR, GP, RGP N/H ID pour l'inoculum. 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,

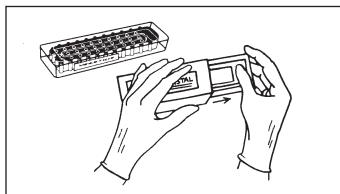
1 formulaire de résultat **BD BBL Crystal** RGP ID.

Matériel non-fourni : 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° 2, visionneuse pour panels **BD BBL Crystal**, livre électronique des codes pour les systèmes **BD BBL Crystal** ID ou manuel des codes **BD BBL Crystal** RGP et les milieux de culture appropriés.

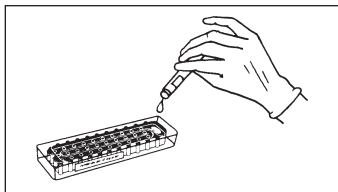
L'équipement et la verrerie de laboratoire utilisés pour la préparation, la conservation et la manipulation d'échantillons cliniques sont aussi requis.

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

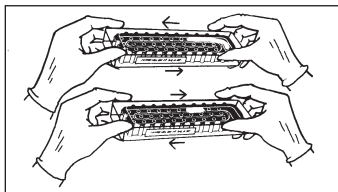
1. Retirer le couvercle de son emballage. Eliminer le dessiccateur. Les couvercles avec protecteur doivent être utilisés dans l'heure qui suit l'ouverture de l'emballage. S'il n'y a pas de dessiccateur dans l'emballage, ne pas utiliser le panel.
2. Prendre un tube de solution pour l'inoculum et reporter 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. Suspendre 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 sec. La turbidité devrait être au moins équivalente au degré McFarland N° 2. 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° 2.
 - 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° 2. 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 ± 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.



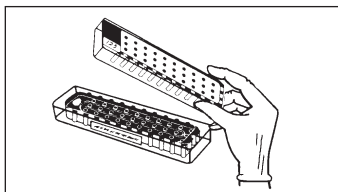
5. Prendre une base et reporter le numéro d'échantillon du patient sur la paroi latérale.
6. Verser le contenu du tube de solution de l'inoculum dans la zone cible de la base.



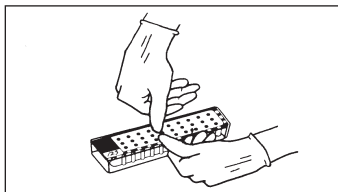
7. Prendre la base à deux mains et faire glisser doucement l'inoculum le long des conduits jusqu'à ce que tous les puits soient entièrement remplis. Faire *refluer* l'excédent vers la zone cible et placer la base sur la surface de travail. A cause de la forte concentration de cellules utilisée avec le panel **BD BBL Crystal RGP ID**, il est nécessaire de faire glisser l'inoculum avec précaution le long des conduits afin de s'assurer qu'un remplissage adéquat des puits a eu lieu. S'assurer de l'absence d'excédent de liquide entre les puits avant d'aligner le couvercle.



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

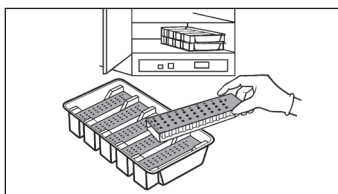


9. Appuyer jusqu'à ce qu'une légère résistance soit perçue. Placer les pouces de chaque côté du couvercle, près du bord du couvercle et à peu près au centre du panel, et appuyer simultanément avec les deux pouces jusqu'à ce que le couvercle soit parfaitement emboîté (on entend alors deux "déclics").



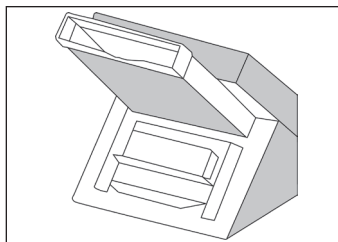
Gélose de contrôle de pureté : à l'aide d'une anse stérile, récupérer une goutte de solution d'inoculum dans le tube avant ou après avoir inoculé la base et ensemercer une gélose en boîte ou en tube incliné (tout milieu approprié) pour vérifier la pureté de l'inoculum. Jeter le tube pour la solution 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 **4 h** à une température de 35 – 37 °C. NOTE : La porte de l'incubateur ne doit pas être ouverte de manière répétée durant la période d'incubation (de préférence moins de 3 fois). Retirer les panels de l'incubateur, effectuer la lecture dans un délai de 30 min.



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 RGP** pour enregistrer les réactions.

- 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 profil numérique obtenu, et la morphologie cellulaire si celle-ci est connue, doivent être saisis sur un micro-ordinateur (PC) dans lequel le logiciel du livre électronique des codes pour les systèmes **BD BBL Crystal ID** a été installé. Un manuel des codes est également disponible. Si vous ne disposez pas d'un PC, contactez les services techniques de BD Diagnostics pour l'aide à l'identification.

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").
- Avant d'incuber, laisser le panel à la température ambiante pendant 1 min (ne pas dépasser 2 min).
- Lire et enregistrer les réactions à l'aide de la visionneuse pour panels et de la grille d'interprétation des réactions colorées.
- Si un des puits est positif (à l'exception du puits 1J) selon la grille d'interprétation des réactions colorées (après 1 à 2 min), NE PAS UTILISER LES PANELS de ce lot. Contacter les services techniques de BD Diagnostics.
- Si tous les puits sont négatifs, incuber le panel pendant 4 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.
- 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.
- La porte de l'incubateur ne doit pas être ouverte de manière répétée durant la période d'incubation (de préférence moins de 3 fois).

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

LIMITES DE LA METHODE

Le système **BD BBL Crystal RGP 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.

Lors des essais cliniques, des erreurs d'interprétation concernant *Enterococcus faecium* et *Streptococcus mitis* ont été commises sur un site. Il est par conséquent conseillé de vérifier l'identité de ces deux espèces à chaque fois que l'utilisateur le juge nécessaire.

La base de données **BD BBL Crystal RGP 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 RGP ID** : TSA II ou gélose de sang Columbia. L'utilisation de géloses sélectives, telles PEA ou ANC 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 RGP ID** repose sur l'analyse statistique de tests spécialement conçus et sur une base de données exclusive.

Bien que le système **BD BBL Crystal** RGP 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.

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 contenu 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.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE

Reproductibilité : dans une étude externe impliquant trois des laboratoires cliniques (un total de trois évaluations), la reproductibilité des réactions des substrats (29) du système **BD BBL Crystal** RGP ID a été évaluée lors de tests répétés. La reproductibilité des réactions de chaque substrat se situait entre 94,7 et 100 %. La reproductibilité globale des panels **BD BBL Crystal** RGP ID a été déterminée comme étant 99,4 %.²⁰

Exactitude de l'identification : la performance du système **BD BBL Crystal** RGP 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 trois études a été réalisé dans trois 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 604 isolats testés lors des études, 550 (91,1 %) isolats ont été correctement identifiés (incluant les isolats ayant requis des tests supplémentaires) par le système d'identification **BD BBL Crystal** RGP. Un total de 53 (8,8 %) isolats ont été incorrectement identifiés et un message "Aucune identification" a été obtenu avec un (0,2 %) isolat.²⁰

MATERIEL DISPONIBLE

N° cat.	Description	N° cat.	Description
245150	BD BBL Crystal RGP Rapid 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 ANC 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 ANC BD BBL avec 5 % de sang de mouton, carton de 100 géloses.
245033	Visionneuse pour panels BD BBL Crystal , modèle japonais, 100 V, 50/60 Hz.	221179	Gélose d'alcool phényléthylrique 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 phényléthylrique 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.
245001	Livre électronique des codes pour les systèmes BD BBL Crystal ID.	221261	Gélose de soja Trypticase BD BBL avec 5 % de sang de mouton (TSA II), carton de 100 géloses.
245041	Manuel des codes pour le système BD BBL Crystal d'identification rapide des bactéries gram-positives.	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.

BD BBL Crystal Schnelltestsystem zur Identifizierungssysteme

Identifizierung von grampositiven Bakterien

Deutsch

VERWENDUNGSZWECK

Das **BD BBL Crystal** Schnelltestsystem zur Identifizierung (ID) von grampositiven Bakterien (RGP) 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** RGP-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** RGP-ID-Testkit besteht aus (i) Deckeln für die **BD BBL Crystal** RGP-ID-Panels, (ii) **BD BBL Crystal** Untersätzen und (iii) Röhrchen mit **BD BBL Crystal** ANR, GP, RGP, N/H ID-Inokulumflüssigkeit (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 Inokulumflüssigkeit 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 **BD BBL Crystal** RGP-ID-Substrate für eine Vielzahl von Mikroorganismen sind in der **BD BBL Crystal** RGP-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** RGP-ID-Panels enthalten 29 getrocknete biochemische und enzymatische Substrate. Zur Rehydrierung der Substrate dient eine Bakteriensuspension in der Inokulumflüssigkeit. Die im Identifizierungssystem verwendeten Tests basieren auf mikrobieller Nutzung und mikrobiellem Abbau spezifischer Substrate, die von verschiedenen Indikatorsystemen 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 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).

REAGENZIEN

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

Sicherheitshinweise: In-Vitro-Diagnostik

Nach einer Prüfung seitens der U.S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) und der U.S. Food and Drug Administration (FDA) gemäß CLIA '88 wurde dieses Produkt als ein Produkt hoher Komplexität identifiziert. Der CDC Analyte-Identifizierungscode (Analyte Identifier Code) ist 0412; der CDC Testsystem-Identifizierungscode (Test System Identifier Code) ist 07920.

Nach Verwendung müssen alle infektiösen Materialien einschließlich Platten, Wattetupfern, Inokulumflüssigkeit-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 aufbewahrte Deckel bleiben 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.

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

BD BBL Crystal RGP-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.

PROBENTNAHME 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) 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 Inokulumssuspensionen 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** RGP-ID-Kit –

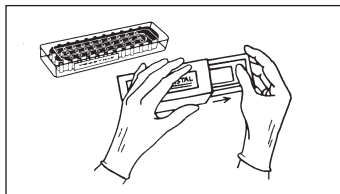
- 20 Deckel für die **BD BBL Crystal** RGP-ID-Panels,
- 20 **BD BBL Crystal** Untersätze,
- 20 Röhrcn mit **BD BBL Crystal** ANR, GP, RGP, N/H ID-IF. Jedes Röhrcn enthält etwa $2,3 \pm 0,15$ mL Inokulumslüssigkeit folgender Zusammensetzung: KCl 7,5 g, CaCl₂ 0,5 g, Tricin N-[2-Hydroxy-1, 1-bis (Hydroxymethyl)-Methyl] Glycin 0,895g, destilliertes Wasser auf 1000 mL.
- 2 Inkubationsschalen,
- 1 Berichtsbogen für das **BD BBL Crystal** RGP-ID-System.

Nicht mittelgeliefertes Arbeitsmaterial: Sterile Baumwolltupfer (*keine Polyester-tupfer verwenden*), Inkubator (35 – 37 °C), CO₂-frei (40 – 60 % Luftfeuchtigkeit), McFarland Standard Nr. 2, **BD BBL Crystal** Panel-Betrachter, Elektronisches Codebuch für das **BD BBL Crystal** ID-System oder **BD BBL Crystal** RGP Manuelles Codebuch, und geeignete Kulturmedien.

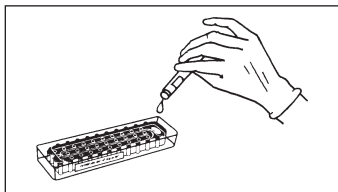
Ferner werden die zur Vorbereitung, Lagerung und Verarbeitung der Blutproben verwendeten Geräte und Laborutensilien benötigt.

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

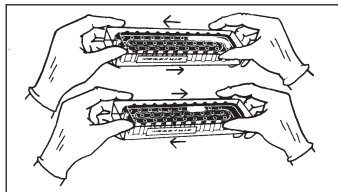
1. Deckel aus der Hülle nehmen. Trockenmittel verwerfen. Die geschützten Deckel sollten innerhalb einer 1 h Entnahme aus der Hülle verwendet werden. Panel nicht verwenden, wenn sich kein Trockenmittel in der Hülle befindet.
2. Ein Röhrcn mit Inokulumslüssigkeit mit der Nummer der Patientenprobe beschriften. 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 Röhrcn mit **BD BBL Crystal** ANR, GP, RGP, N/H ID-Inokulumslüssigkeit suspendieren.
4. Röhrcn wieder verschließen und etwa 10 – 15 Sek. homogenisieren. Die Trübung sollte einem McFarland Standard Nr. 2 entsprechen. Falls die Konzentration der Inokulumssuspension während der Zubereitung den McFarland Standard überschreitet, wird eine der folgenden Maßnahmen empfohlen:
 - a. Mittels eines frischen Röhrcns Inokulumslüssigkeit eine neue Inokulumssuspension entsprechend dem McFarland Standard Nr. 2 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 Inokulumslüssigkeit verdünnen, um die Trübung auf einen McFarland Standard Nr. 2 entsprechenden Wert zu reduzieren. Die dem Röhrcn zugesetzte, zusätzliche Flüssigkeitsmenge mit einer sterilen Pipette entfernen, so daß das Endvolumen der Inokulumslüssigkeit etwa dem Originalvolumen des Röhrcns ($2,3 \pm 0,15$ mL) entspricht. Wird das Volumen auf diese Weise nicht reduziert, fließt die Inokulumssuspension über den schwarzen Teil des Untersatzes, wodurch das Panel unbrauchbar wird.



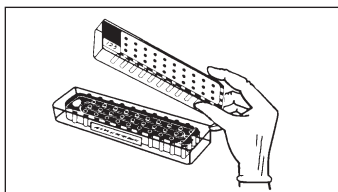
5. Einen Untersatz nehmen und die Nummer der Patientenprobe auf die Seitenwand schreiben.
6. Den ganzen Inhalt des Inokulumsflüssigkeit-Röhrchens in das dafür vorgesehene Reservoir des Untersatzes füllen.



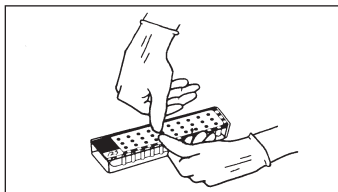
7. Untersatz mit beiden Händen halten und das Inokulum vorsichtig entlang der Laufspur fließen lassen, bis alle Vertiefungen gefüllt sind. Überschüssige Flüssigkeit *zurück* in das Reservoir fließen lassen und den Untersatz auf den Labortisch stellen. Aufgrund der hohen Zellkonzentrationen, die in den **BD BBL Crystal RGP-ID-Panels** verwendet werden, ist das Inokulum mit Vorsicht entlang der Laufspur fließen zu lassen, damit auch alle Vertiefungen gefüllt werden. Sorgen Sie dafür, daß sich keine überschüssige Flüssigkeit zwischen den Vertiefungen befindet, bevor der Deckel ausgerichtet wird.



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

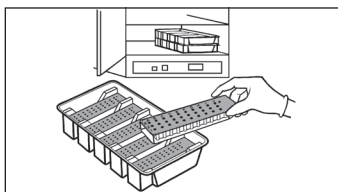


9. Niederdrücken, bis ein leichter Widerstand zu fühlen ist. Mit den Daumen auf beiden Seiten am Rand des Deckels etwa in der Panel-Mitte gleichzeitig niederdrücken, bis der Deckel einrastet (es sind zwei "Klicks" zu hören).



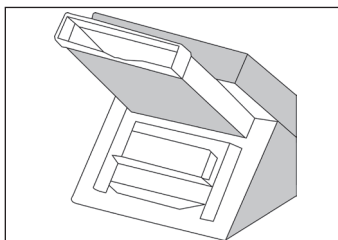
Reinkultur: Zur Durchführung einer Reinheitsprüfung entweder vor oder nach Beimpfen des Untersatzes mit einer sterilen Öse einen kleinen Tropfen vom Inokulumsflüssigkeit-Röhrchen entnehmen und damit einen Schrägagar oder eine Agarplatte (jegliches nicht-selektive Medium) beimpfen. Das Inokulumsflüssigkeit-Röhrchen 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 zwei Schalen aufeinander gestapelt werden. Die Inkubationszeit für Panels beträgt **4 h** bei 35 – 37 °C. **HINWEIS:** Der Inkubator sollte während der Inkubationszeit nicht wiederholt geöffnet werden (möglichst weniger als 3 Mal). Die Panels sollten 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 (s.S. 28 – 30) heranziehen und die Reaktionen auf dem **BD BBL Crystal RGP Berichtsbogen** eintragen.

- a. Spalten E bis J zuerst mit der regulären (weißes Licht) Lampe ablesen.
- b. 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 Profilvernummer: 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 Profilvernummer.

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, muß die entstandene Profilvernummer und die Zellmorphologie, wenn bekannt, in einen Computer eingegeben werden, in dem das Elektronische Codebuch für das **BD BBL Crystal** ID-System 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.

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

1. Gemäß empfohlenem Verfahren (s. "Testverfahren") ein Panel mit *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 beschicken.
2. Vor der Inkubation das Panel 1 min (jedoch nicht mehr als 2 min) bei Raumtemperatur stehen lassen.
3. Mit Hilfe des Panel-Betrachters und der Farbreaktionstabelle die Reaktionen ablesen und aufzeichnen.
4. Falls laut Farbreaktionstabelle (nach 1 – 2 min) irgendwelche Vertiefungen, ausgenommen 1J, positiv sind, DIE PANELS dieser Charge nicht verwenden, sondern mit dem Technischen Kundendienst von BD Diagnostics in Verbindung treten.
5. Wenn alle Vertiefungen negativ sind, das Panel 4 h bei 35 – 37 °C inkubieren.
6. Panel mit dem Panel-Betrachter und der Farbreaktionstabelle ablesen; Reaktionen auf dem Berichtsbogen eintragen.
7. 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.
8. Der Inkubator sollte während der Inkubationszeit nicht wiederholt geöffnet werden (vorzugsweise weniger als 3 Mal).

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

VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

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

Während der klinischen Auswertungen, wurden an einem Testlabor *Enterococcus faecium* und *Streptococcus mitis* falsch interpretiert. Es wird daher empfohlen, die Identifizierung dieser beiden Spezies immer zu bestätigen, wenn der Anwender es für geeignet hält.

Die **BD BBL Crystal** RGP-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** RGP-ID-System empfehlen wir die folgenden Medien: TSA II oder 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** RGP-ID-Systems beruht auf der statistischen Verwendung speziell entworfener Tests und einer exklusiven Datenbank.

Auch wenn das **BD BBL Crystal** RGP-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.

Zur Vorbereitung der Inokulumsuspendension sollten ausschließlich Tupfer mit Baumwollspitze verwendet werden, da einige Polyester tupfer 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 Plastikschild 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 **BBL Crystal** Testprofil das Ergebnis "Keine Identifizierung" liefert und die Reinheit der Kultur bestätigt wurde, dann besteht die Wahrscheinlichkeit, daß (i) das Testisolat *atypische 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 drei klinischen Labors (Summe aus drei Auswertungen) wurde die Reproduzierbarkeit der Reaktionen der **BD BBL Crystal** RGP-ID-Substrate (29) in Wiederholungstests untersucht. Die Reproduzierbarkeit der einzelnen Substrate betrug zwischen 94,7 % und 100 %. Insgesamt lag die Reproduzierbarkeit des **BD BBL Crystal** RGP-ID-Panels bei 99,4 %.²⁰

Genauigkeit der Identifizierung: Die Leistung des **BD BBL Crystal** RGP-ID-Systems wurde unter **Verwendung klinischer Isolate und Stammkulturen** mit derzeit im Handel erhältlichen Systemen verglichen. Insgesamt wurden drei Studien an drei 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 604 Isolaten, die in den Studien untersucht wurden, lieferte das **BD BBL Crystal** RGP-Identifizierungssystem 550 (91,1 %) richtige Ergebnisse (einschließlich Isolate, die zusätzliche Tests benötigten). 53 (8,8 %) der Isolate wurden nicht richtig identifiziert, und bei einem (0,2 %) Isolat erschien die Meldung "Keine Identifizierung".²⁰

LIEFERBARE PRODUKTE

Best.-Nr.	Beschreibung	Best.-Nr.	Beschreibung
245150	BD BBL Crystal RGP Rapid 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.
245001	Elektronisches Codebuch für das BD BBL Crystal ID-System.	221261	BD BBL Trypticase -Soja-Agar mit 5 % Schafblut (TSA II), Karton mit 100.
245041	Manuelles Codebuch für das BD BBL Crystal Schnelltestsystem zur Identifizierung von grampositiven Bakterien.	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.

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

Italiano

USO PREVISTO

Il sistema **BD BBL Crystal** d'identificazione (ID) Rapid Gram-Positive (RGP) 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** RGP 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** RGP ID comprende (i) coperchi per pannelli **BD BBL Crystal** RGP 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 scatta in posizione e l'inoculo del test reidrata i substrati dando inizio alle reazioni del 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 schemi delle reazioni biochimiche ed enzimatiche per i 29 substrati del sistema **BD BBL Crystal** RGP ID per un'ampia varietà di microrganismi sono memorizzati nel 'database' **BD BBL Crystal** RGP 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** RGP 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-meticumarina (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 d'identificazione sono descritte nella Tabella 2. La posizione del 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** RGP ID contiene 29 substrati enzimatici e biochimici. Far riferimento alla Tabella 3 per l'elenco degli ingredienti attivi.

Precauzioni: 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, torbidità). 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** RGP ID.

Al ricevimento, conservare il kit **BD BBL Crystal** RGP 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) o l'agar Columbia con sangue di montone al 5% (Columbia). Sono accettabili anche terreni selettivi come l'agar alcol feniletico 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 RGP ID –

20 coperchi per pannelli **BD BBL Crystal** RGP 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, CaCl_2 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,

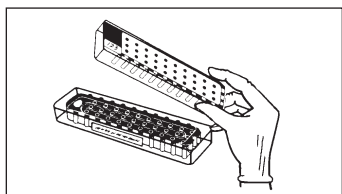
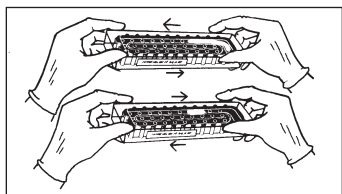
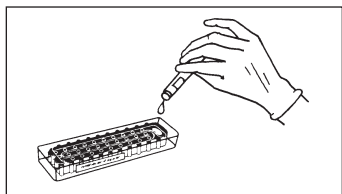
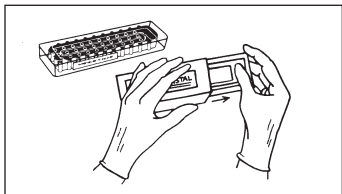
1 blocchetto per referti **BD BBL Crystal** RGP ID.

Materiali non forniti: tamponi sterili con punta in cotone (*non usare tamponi in poliestere*), incubatore ($35 - 37^\circ \text{C}$) senza CO_2 (umidità al 40 – 60%), standard McFarland N° 2, visore per pannelli **BD BBL Crystal**, Libro elettronico dei codici per i sistemi **BD BBL Crystal** ID o Manuale dei codici **BD BBL Crystal** RGP 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** RGP 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 sec. La torbidità dovrebbe equivalere allo standard McFarland N° 2. Qualora la concentrazione della sospensione dell'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 equivalente allo standard McFarland N° 2.
 - 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° 2. 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. Data l'elevata concentrazione cellulare usata nei pannelli del sistema **BD BBL Crystal** RGP ID, l'inoculo dev'essere fatto scorrere con attenzione sui canali per garantire che tutti i pozzetti vengano riempiti correttamente. Verificare che non vi sia fluido nello spazio fra i pozzetti prima di allineare il coperchio.
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 polli 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 due vassoi. Per i pannelli il tempo di incubazione è di **4 h** a una temperatura di 35 – 37° C. **NOTA:** Durante il periodo d'incubazione non si dovrebbe aprire ripetutamente l'incubatore (preferibilmente meno di 3 volte). Dopo aver tolto i pannelli dall'incubatore, effettuare la lettura entro 30 min.

Lettura: 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 **BD BBL Crystal**. Per l'interpretazione delle reazioni far riferimento alla tavola sinottica dei colori delle reazioni e/o alla Tabella 3 (vedere pagg. 28 – 30). Registrare le reazioni nel blocchetto per referti **BD BBL Crystal RGP**.

- 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 *solo* 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.

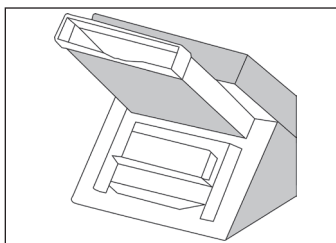
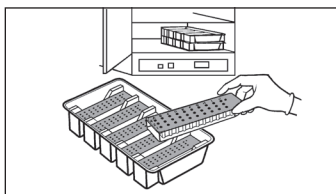
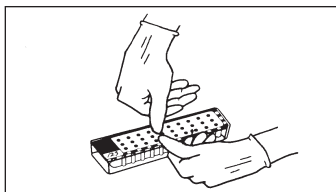
Esempio:	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4	*	+	–	–	+	+	+	–	+	–
2	–	+	+	+	–	+	–	+	+	–
1	+	–	+	–	+	–	–	+	+	–
Profilo	1	6	3	2	5	6	4	3	7	0

* (4A) = controllo negativo di fluorescenza

Il numero di profilo risultante e la morfologia delle cellule, se conosciuta, vanno digitati su un PC, sul quale è stato installato il Libro elettronico dei codici per i sistemi **BD BBL Crystal ID**, per ottenere l'identificazione. 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.

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

- Inoculare un pannello con *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 secondo la procedura raccomandata (fare riferimento a "Procedura del test").
- Prima dell'incubazione, lasciare il pannello a temperatura ambiente per 1 min (non oltre 2 min).
- Leggere e registrare le reazioni con l'aiuto del visore per pannelli e della tavola sinottica dei colori delle reazioni.
- Se uno qualunque dei pozzetti (tranne 1J) è positivo in base alla tavola sinottica dei colori delle reazioni (dopo 1 – 2 min), **NON USARE I PANNELLI** di questo lotto. Rivolgersi al Servizio Tecnico della BD Diagnostics.
- Se tutti i pozzetti risultano negativi, incubare il pannello per 4 h a 35 – 37° C.
- Leggere il pannello con il visore per pannelli e la tavola sinottica dei colori delle reazioni; registrare le reazioni nel blocchetto per referti.
- Comparare le reazioni registrate a quelle elencate alla Tabella 4. Se si ottengono risultati divergenti, confermare la purezza del ceppo per il controllo di qualità, prima di rivolgersi al Servizio Tecnico della BD Diagnostics.
- Durante il periodo d'incubazione non si dovrebbe aprire ripetutamente l'incubatore (preferibilmente meno di 3 volte). I risultati dei test previsti per ceppi supplementari di controllo di qualità sono elencati nella Tabella 5.



LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

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

Nel corso delle prove cliniche, sono stati compiuti degli errori d'identificazione su *Enterococcus faecium* e *Streptococcus mitis*. Si raccomanda, perciò, di confermare l'identificazione di queste due specie, ogniqualevolta lo si ritenga opportuno.

Il 'database' **BD BBL Crystal** RGP 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** RGP ID: agar TSA II o agar sangue Columbia. È accettabile anche l'uso di terreni selettivi come PEA o CNA. Non vanno usati i terreni contenenti esculina.

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** RGP ID si fonda sull'uso statistico di test appositi creati su 'un database' esclusivo.

Sebbene il sistema **BD BBL Crystal** RGP 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 gas-cromatografia liquida, laddove sia necessario.

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 d'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** RGP ID (29) è stata studiata mediante analisi ripetute in uno studio esterno condotto in tre laboratori clinici (tre valutazioni in totale). La riproducibilità delle reazioni dei substrati individuali è risultata in una gamma compresa tra 94,7% e 100%. La riproducibilità globale del pannello **BD BBL Crystal** RGP ID è risultata del 99,4%.²⁰

Grado di accuratezza dell'identificazione: La performance del sistema **BD BBL Crystal** RGP ID è stata paragonata a quella dei sistemi di identificazione attualmente in commercio usando **isolati clinici e colture in stock**. Sono state condotte tre analisi in tre 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 604 isolati testati negli studi, il sistema **BD BBL Crystal** RGP ID ne ha riportato in maniera esatta 550 (91,1%), compresi gli isolati che hanno richiesto analisi supplementari per la loro risoluzione. 53 isolati (8,8%) non sono stati identificati correttamente ed un messaggio di "Nessuna identificazione" è stato ottenuto per un isolato (0,2%).²⁰

DISPONIBILITÀ

N° di cat.	Descrizione	N° di cat.	Descrizione
245150	BD BBL Crystal RGP Rapid 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 feniletilico BD BBL con sangue di montone al 5%, confezione da 20.
245034	Tubo UV ad onde lunghe del visore per pannelli BD BBL Crystal .	221277	Agar alcol feniletilico BD BBL con sangue di montone al 5%, confezione da 100.
245036	Tubo 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.
245001	Libro elettronico dei codici per i sistemi BD BBL Crystal ID.	221261	Agar soia Trypticase BD BBL con sangue di montone al 5% (TSA II), confezione da 100.
245041	Manuale dei codici per i sistemi d'identificazione BD BBL Crystal Rapid Gram-Positive.	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.

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

Español

USO PREVISTO

El sistema **BD BBL Crystal** para la identificación (ID) rápida de bacterias gram-positivas (RGP) es un método de identificación en miniatura que utiliza substratos convencionales, fluorogénicos y cromogénicos modificados. Se ha diseñado para la identificación de bacterias gram-positivas aerobias 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** RGP 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** RGP ID incluye (i) tapas del panel **BD BBL Crystal** RGP 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** RGP ID para una gran variedad de microorganismos están almacenadas en la base de datos **BD BBL Crystal** RGP 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** RGP 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 RGP ID** contiene 29 substratos enzimáticos y bioquímicos. Vea la Tabla 3 para la lista de los ingredientes activos.

Precauciones: 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 RGP ID**.

Al recibirse, el equipo **BD BBL Crystal RGP 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 medios como agar soja **Trypticase** con 5% de sangre de cordero (TSA) o agar Columbia con 5% de sangre de cordero (Columbia). También es aceptable el uso de medios selectivos como agar alcohol feniletílico 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 e inocularlas en medios de aislamiento primario.^{1,16}

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

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

20 tapas del panel **BD BBL Crystal RGP 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,

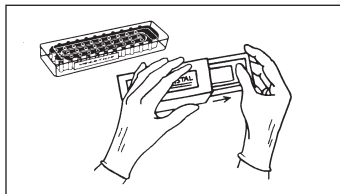
1 bloc de informes **BD BBL Crystal RGP ID**.

Materiales 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° 2, 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 RGP**, y medios de cultivo apropiados.

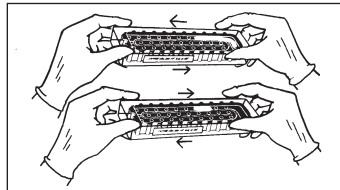
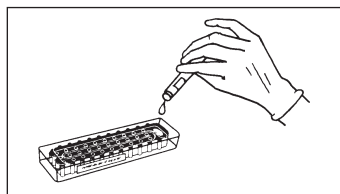
También son necesarios el equipo y material de laboratorio utilizado en la preparación, almacenamiento y manipulación de las muestras clínicas.

Procedimiento de la prueba: El sistema **BD BBL Crystal RGP 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 hora. 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 tapar el tubo y agite en un vórtex por 10 – 15 seg. La turbidez deberá ser equivalente a un patrón McFarland N° 2. 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° 2.
 - 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° 2. 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 ($2,3 \text{ mL} \pm 0,15 \text{ mL}$). 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.

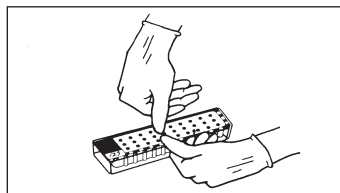
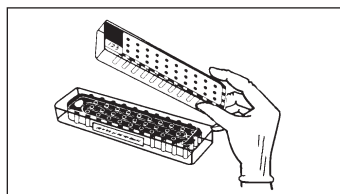


7. Tome la base con ambas manos, balanceándola suavemente hasta que los pocillos se llenen con el inóculo. Balancee la base *nuevamente* para escurrir el exceso de líquido de vuelta al área demarcada, y ponga la base sobre la mesa. Debido a las altas concentraciones de células en los paneles **BD BBL Crystal RGP ID**, se deberá balancear el inóculo a lo largo de las bases con cuidado para asegurarse el relleno completo de los pocillos. Asegúrese de que no haya exceso de líquido entre los pocillos antes de colocar la tapa.
8. Alinee la tapa de modo que el extremo donde se encuentra la inscripción esté sobre el área demarcada de la base.

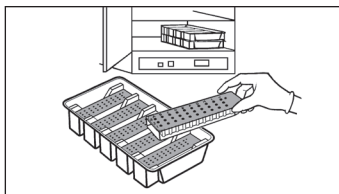


9. Presione hacia abajo hasta sentir una leve resistencia. Ponga los pulgares a cada lado del borde de la tapa en el medio del panel y presione hacia abajo simultáneamente hasta que la tapa se asiente en su lugar (se escucharán dos "golpecitos").

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.

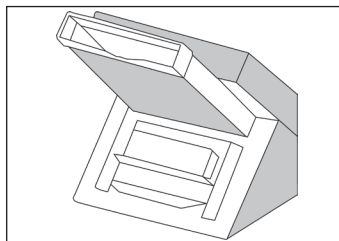


Incubación: Ponga los paneles inoculados en bandejas de incubación. Se pueden poner diez paneles en una bandeja (5 filas de 2 paneles). Todos los paneles deben incubarse **boca abajo** (ventana grande hacia arriba; etiqueta hacia abajo) en una incubadora sin CO₂ con 40 – 60% de **humedad relativa**. No deben apilarse más de dos bandejas durante la incubación. El tiempo de incubación para los paneles es de **4 h** a una temperatura de 35 – 37 °C. Nota: la incubadora no debe abrirse continuamente durante el período de incubación (es preferible que se abra menos de 3 veces). Los paneles 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 RGP** para anotar las reacciones.

- 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 la morfología celular, si se conoce, deben tabularse en un PC con el Libro electrónico de códigos para el sistema **BD BBL Crystal ID** instalado 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.

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

- Inocule un panel con *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 según las recomendaciones previas (consulte la sección "Procedimiento de la prueba").
- Antes de la incubación, deje el panel a temperatura ambiente durante 1 min (no más de 2 min).
- Lea y anote las reacciones con ayuda del visor para paneles y la plantilla de reacciones de color.
- Si de acuerdo con la plantilla de color, cualquiera de los pocillos (excepto el pocillo 1J) fuera positivo (después de 1 a 2 min), **NO USAR LOS PANELES** de ese lote. Póngase en contacto con el Servicio Técnico de BD Diagnostics.
- Si todos los pocillos son negativos, incube el panel durante 4 h entre 35 – 37 °C.
- Lea el panel con ayuda del visor para paneles y la plantilla de color; anote las reacciones utilizando el bloc de informes.
- 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 Diagnostics.
- La puerta de la incubadora no debe abrirse repetidamente durante el período de incubación (preferiblemente menos de 3 veces).

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

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

El sistema **BD BBL Crystal RGP 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.

Durante pruebas clínicas en un centro, se obtuvieron identificaciones incorrectas de *Enterococcus faecium* y *Streptococcus mitis*. Por lo tanto, se recomienda que el usuario confirme la identificación de estas dos especies cuando lo estime apropiado.

La base de datos del sistema **BD BBL Crystal RGP ID** se creó con medios de la marca **BBL**. La reactividad de algunos substratos 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 RGP ID**: TSA II o 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** RGP ID se basa en la interpretación estadística de pruebas específicamente diseñadas y una base de datos exclusiva.

Mientras que el sistema **BD BBL Crystal** RGP 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.

Sólo se deben utilizar torundas con puntas de algodón en la preparación de la suspensión del inóculo ya que algunas torundas de políéster 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 sea utilizada.

La incubadora donde se ponen los paneles debe ser humidificada para impedir la evaporación del fluido del 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 tres laboratorios clínicos (tres evaluaciones en total), se analizó la reproducibilidad de (29) reacciones de los sustratos del sistema **BD BBL Crystal** RGP ID mediante pruebas múltiples. La reproducibilidad de las reacciones de los sustratos individuales varió entre 94,7% y 100%. Se determinó que la reproducibilidad general del panel **BD BBL Crystal** RGP ID era del 99,4%.²⁰

Exactitud de la identificación: Se comparó el rendimiento del sistema **BD BBL Crystal** RGP ID con sistemas actualmente disponibles en el comercio utilizando aislados clínicos y cultivos madre. Un total de tres estudios se llevó a cabo en tres 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** RGP ID identificó correctamente 550 (91,1%) de los 604 aislados totales analizados en los estudios (incluyendo los aislados que requirieron análisis adicional). Un total de 53 aislados (8,8%) fue identificado incorrectamente y se obtuvo un mensaje “Sin identificación” para un aislado (0,2%).²⁰

DISPONIBILIDAD

Nº de cat.	Descripción	Nº de cat.	Descripción
245150	BD BBL Crystal RGP Rapid 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.
245001	Libro electrónico de códigos para el sistema BD BBL Crystal ID.	221261	Agar soja Trypticase BD BBL con 5% de sangre de cordero (TSA II), caja de 100.
245041	Libro de códigos manual para el sistema BD BBL Crystal para la identificación rápida de bacterias gram-positivas.	212539	Equipo BD BBL para la tinción de Gram, paquete de 4 frascos de 250 mL.

BIBLIOGRAFIA: Ver “References” en el texto en inglés.

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

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

Taxa in BD BBL™ Crystal™ RGP ID System / Taxonomie dans le système BD BBL Crystal RGP ID / Im
 BD BBL Crystal RGP-ID-System gespeicherte Taxa / Unità tassonomiche nel sistema BD BBL Crystal RGP ID / Grupos
 taxonómicos en el sistema BD BBL Crystal RGP ID

<i>Actinomyces pyogenes</i>	<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	<i>Paenibacillus alvei</i>	<i>Streptococcus equinus</i>
<i>Aerococcus viridans</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Pediococcus</i> species / espèce / Spezies / specie	<i>Streptococcus gordonii</i>
<i>Bacillus brevis</i>	<i>Gemella haemolysans</i>	/ especie (includes / includit / einschließblich	<i>Streptococcus group</i> / groupe / Gruppe / gruppo / grupo C/G
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Gemella morbillorum</i>	/ include / inclue	<i>Streptococcus intermedius</i>
<i>Bacillus licheniformis</i>	<i>Gemella</i> species (includes / includit / einschließblich / include / incluye G. haemolysans, G. morbillorum)	<i>P. damnosus</i> , <i>P. parvulus</i> , ¹ <i>P. pentosaceus</i>)	<i>Streptococcus milleri</i> group / groupe / Gruppe / gruppo
<i>Bacillus megaterium</i>	<i>Lactococcus garvieae</i>	<i>Rhodococcus equi</i>	/ grupo (includes / includit / einschließblich / include
<i>Bacillus pumilus</i>	<i>Lactococcus lactis</i> ssp <i>cremoris</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	/ incluye <i>S. anginosus</i> , <i>S. constellatus</i> and / et / und / e / y <i>S. intermedius</i>)
<i>Bacillus</i> species (includes / includit / einschließblich / include / incluye	<i>Lactococcus lactis</i> ssp <i>hordniae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>B. brevis</i> , <i>B. licheniformis</i> , <i>B. megaterium</i> , <i>B. pumilus</i> , <i>P. alvei</i>)	<i>Lactococcus lactis</i> ssp <i>lactis</i>	<i>Staphylococcus gallinarum</i>	<i>Streptococcus mitis</i> group / groupe / Gruppe / gruppo
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Lactococcus species</i> (includes / includit / einschließblich / include	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	/ groupe / Gruppe / gruppo
<i>Corynebacterium bovis</i>	/ incluye <i>L. garvieae</i> , <i>L. lactis</i> ssp <i>cremoris</i> , <i>L. lactis</i> ssp <i>hordniae</i> , <i>L. lactis</i> ssp <i>lactis</i>)	<i>Staphylococcus hominis</i>	/ grupo (includes / includit / einschließblich / include / incluye <i>S. mitis</i> and / et / und / e / y <i>S. oralis</i>)
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> (includes / includit / einschließblich / include / incluye	<i>Leuconostoc citreum</i>	<i>Staphylococcus intermedius</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>C. diphtheriae</i> ssp <i>gravis</i> , <i>C. diphtheriae</i> ssp <i>intermedius</i> , <i>C. diphtheriae</i> ssp <i>mitis</i>)	<i>Leuconostoc lactis</i>	<i>Staphylococcus lentus</i>	<i>Streptococcus mutans</i> group / groupe / Gruppe / grupo / grupo (includes / includit / einschließblich / include / incluye
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> ssp <i>mesenteroides</i>	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	<i>S. cricetus</i> , <i>S. mutans</i> and / et / und / e / y <i>S. sobrinus</i>)
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	<i>Leuconostoc species</i> (includes / includit / einschließblich / include / incluye <i>L. citreum</i> , <i>L. lactis</i> , <i>L. mesenteroides</i> ssp <i>mesenteroides</i>)	<i>Staphylococcus saccharolyticus</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Corynebacterium renale</i> group / groupe / Gruppe / grupo / grupo	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Corynebacterium</i> species / espèce / Spezies / specie / especie (includes / includit / einschließblich / include / incluye <i>C. bovis</i> , <i>C. pseudodiphtheriticum</i> , <i>C. pseudotuberculosis</i> , <i>C. renale</i> group / groupe / Gruppe / gruppo / grupo <i>C. ulcerans</i>)	<i>Listeria murrayi/grayi</i>	<i>Staphylococcus sciuri</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Corynebacterium ulcerans</i>	<i>Micrococcus kristinae</i>	<i>Staphylococcus simulans</i>	<i>Streptococcus salivarius</i> group / groupe / Gruppe / grupo / grupo (includes / includit / einschließblich / include / incluye
<i>Enterococcus avium</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Staphylococcus warneri</i>	<i>S. salivarius</i> and / et / und / e / y <i>S. vestibularis</i>)
<i>Enterococcus</i>	<i>Micrococcus roseus</i>	<i>Staphylococcus xylosum</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>casseliflavus/gallinarum</i>	<i>Micrococcus species</i> / espèce / Spezies / specie / especie (includes / includit / einschließblich / include	<i>Stomatococcus mucilaginosus</i> ¹	<i>Streptococcus sanguis</i> group / groupe / Gruppe / grupo / grupo (includes / includit / einschließblich / include / incluye
<i>Enterococcus durans</i>	<i>Oerskovia</i> species / espèce / Spezies / specie / especie (includes / includit / einschließblich / include / incluye <i>M. kristinae</i> , <i>M. luteus</i> , <i>M. roseus</i>)	<i>Streptococcus acidominimus</i>	<i>S. cristae</i> , <i>S. sanguis</i> , and / et / und / e / y <i>S. gordonii</i>)
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>O. xanthineolytica</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Streptococcus sobrinus</i>
<i>Enterococcus faecium</i>		<i>Streptococcus anginosus</i>	<i>Streptococcus uberis</i>
<i>Enterococcus raffinosus</i>		<i>Streptococcus bovis</i> (includes / includit / einschließblich / include / incluye <i>S. bovis</i> I and / et / und / e / y <i>S. bovis</i> II)	<i>Streptococcus vestibularis</i>
		<i>Streptococcus constellatus</i>	
		<i>Streptococcus cricetus</i>	
		<i>Streptococcus crista</i>	
		<i>Streptococcus equi</i> (includes / includit / einschließblich / include / incluye <i>S. equi</i> ssp <i>equi</i> and / et / und / e / y <i>S. equi</i> ssp <i>zooepidemicus</i>)	

KEY: 1 = These taxa have fewer than 10 unique BD BBL Crystal profiles in the current database / Ces taxa ont <10 profils BD 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 / 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™ RGP ID System / Principes des tests employés dans le système BD BBL Crystal RGP ID / Im BD BBL Crystal RGP-ID-System angewandte Verfahrensprinzipien / Principi dei test utilizzati dal sistema BD BBL Crystal RGP ID / Principios de las pruebas usadas en el sistema BD BBL Crystal RGP ID

Panel Location Pos. sur panel / Panel-Position / Posizione nel pannello / Posición en el panel	Test Feature Caractéristiques du test Testsubstrat Caratteristica del test Característica de la prueba	Code Codice Código	Principle (Reference) Principe (référence) Prinzip (Literaturnachweis) Principio (riferimento) Principio (Referencia)
4A	Fluorescent negative control Contrôle négatif fluorescent Fluoreszierende negative Kontrolle Controllo negativo fluorescente Control fluorescente negativo	FCT	Control to standardize fluorescent substrate results. Contrôle pour standardiser les résultats des substrats fluorescents. / Kontrolle zur Standardisierung der fluoreszierenden Substratergebnisse. / Controllo per standardizzare i risultati del substrato fluorescente. / Control para estandarizar los resultados del substrato fluorescente.
2A	4MU-β-D-glucoside 4MU-β-D-Glukosid 4MU-β-D-glucósido	FGC	Enzymatic hydrolysis of the amide or glycosidic bond results in the release of a fluorescent coumarin derivative. ^{5,8,11,12,14,15}
1A	L-proline / Prolin / prolina-AMC	FPR	L'hydrolyse enzymatique des liens amides ou glycosidiques libère un dérivé coumarinique fluorescent.
4B	L-arginine / Arginin / arginina-AMC	FAR	Enzymatische Hydrolyse der Amid- oder
2B	L-methionine / Méthionine / Methionin / metionina-AMC	FME	Glykosidbindungen setzt fluoreszierende Cumarinderivate frei.
1B	4MU-β-D-cellobioside 4MU-β-D-Cellobiosid 4MU-β-D-celobiósido	FCE	L'idrolisi enzimatica del legame ammidico o glicosidico causa il rilascio di un derivato coumarinico fluorescente. La hidrólisis enzimática del enlace amídico o glicosídico resulta en la producción de un derivado coumarínico fluorescente.
4C	4MU-phosphate / Phosphat / fosfato	FHO	
2C	L-pyroglutamic acid-AMC Acide L-pyroglutamique-AMC L-Pyroglutaminsäure-AMC L-acido piroglutamico-AMC L-ácido piroglutámico-AMC	FPY	
1C	L-tryptophan / tryptophane / Tryptophan / triptofano / triptófano-AMC	FTR	
4D	L-valine-AMC / L-Valin-AMC / L-valina-AMC	FVA	
2D	L-phenylalanine-AMC / L-phénylalanine-AMC / L-Phenylalanin-AMC / L-fenilalanina-AMC	FPH	
1D	4MU-α-D-glucoside / Glukosid / glucósido	FGS	
4E	Arabinose / Arabinosio / Arabinosa	ARA	Utilization of carbohydrate results in lower pH and change in indicator (Phenol red). ^{1,2,3,4,7,16}
2E	Maltose / Maltosio / Maltosa	MAL	La métabolisation des carbohydrates entraîne une baisse du pH, ce qui fait virer l'indicateur coloré (rouge de phénol).
1E	Dextrin / Dextrine / Dextrina / Dextrina	DXT	
4F	Mannitol / Mannitolo / Manitol	MNT	
2F	Galactose / Galaktose / Galatlósido / Galactosa	GAL	Die Verwendung von Kohlenhydrat resultiert in niedrigeren pH-Werten und einem Indikatorumschlag (Phenolrot)
1F	N-acetyl-D-glucosamine N-Azetyl-D-Glukosamin N-acetil-D-glucosamina	AGN	L'utilizzo del carboidrato fa abbassare il pH e cambiare colore all'indicatore (rosso fenolo).
4G	Trehalose / Tréhalose / Trealosio / Trehalosa	TRE	La utilización de carbohidratos resulta en una caída del pH y un cambio en el indicador (rojo de fenol).
2G	Mannose / Mannosio / Manosa	MNS	
1G	Maltotriose / Maltotriosio / Maltotriosa	MTT	
4H	o-nitrophenyl-β-D-galactoside (ONPG) & p-nitrophenyl-β-D-glucoside / o-nitrophényl-β-D-galactoside (ONPG) & p-nitrophényl-β-D-glucoside / o-Nitrophenyl-β-D-Galaktosid (ONPG) & p-Nitrophenyl-β-D-Glukosid / o-nitrofenil-β-D-galatlósido (ONPG) & p-nitrofenil-β-D-glucoside / o-nitrofenil-β-D-galactósido (ONPG) y p-nitrofenil-β-D-glucósido	POG	
2H	p-nitrophenyl-α-D-glucoside p-nitrophényl-α-D-glucoside p-Nitrophenyl-α-D-Glukosid p-nitrofenil-α-D-glucoside p-nitrofenil-α-D-glucósido	AGL	

(...continued...)

(...continued...)

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

Panel Location Pos. sur panel / Panel-Position / Posizione nel pannello / Posición en el panel	Test Feature Caractéristiques du test Testsubstrat Caratteristica del test Característica de la prueba	Code Codice Código	Principle (Reference) Principe (référence) Prinzip (Literaturnachweis) Principio (riferimento) Principio (Referencia)
1H	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 aryl substituted glycoside releases yellow p-nitrophenol. ^{5,9,12} 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. La hidrólisis enzimática del glicósido incoloro arilo sustituido resulta en un p-nitrofenol amarillo.
4I	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	
2I	p-nitrophényl-phosphate p-Nitrophenyl-Phosphat p-nitrofenil-fosfato	PHO	
1I	p-nitrophenyl-β-D-galactoside & p-nitrophenyl-α-D-galactoside / p-nitrophényl-β-D-galactoside & p-nitrophényl-α-D-galactoside / p-Nitrophenyl-β-D-Galaktosid & p-Nitrophenyl-α-D-Galaktosid / p-nitrofenil-β-D-galattoside & p-nitrofenil-α-D-galattoside / p-nitrofenil-β-D-galactósido y p-nitrofenil-α-D-galactósido	PPG	
4J	Urea Urée Harnstoff	URE	Hydrolysis of urea and the resulting ammonia change the pH indicator color (Bromthymol blue). ^{2,6,10} 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). La hidrólisis de la urea y el amonio que resulta cambian el color del indicador de pH (azul de bromotimol).
2J	Esculin Esculine Eskulin Esculina	ESC	Hydrolysis of esculin results in a black precipitate in the presence of ferric ion. ¹⁰ 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 di ione ferrico. La hidrólisis de la esculina en la presencia de ion férrico resulta en un precipitado negro.
1J	Ornithine Ornithin Ornitina	ORN	Utilization of ornithine results in pH rise and change in the color of the indicator (Bromcresol purple). ² La métabolisation de l'ornithine entraîne une hausse du pH, ce qui fait virer l'indicateur coloré (pourpre de bromocrésol). Die Verwendung von Ornithin führt zu höherem pH-Wert und einem Farbumschlag des Indikators (bromkresolviolett). L'utilizzo di ornitina fa alzare il pH e cambiare colore all'indicatore (porpora di bromocresolo). La utilización de la ornitina resulta en una subida del pH y un cambio en el color del indicador (púrpura de bromocresol).

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

Reagents used in the BD BBL™ Crystal™ RGP ID System / Réactifs utilisés dans le système BD BBL Crystal RGP ID / Im BD BBL Crystal RGP ID-System verwendete Reagenzien / Reagenti utilizzati nel sistema BD BBL Crystal RGP ID / Reactivos usados en el sistema BD BBL Crystal RGP ID

Panel Location / Pos. sur panel / Panel-Position / Posizione nel pannello / Posición en el panel	Substrate Substrat Substrato	Code Codice Código	Pos.	Neg. / Nég.	Active Ingredients Réactifs Ingredienti attivi Ingredientes activos	Approx Amt. (g/L) Quantité approx. (g/L) Ungel. Menge (g/L) Quantità approssimativa (g/L) Cantidad aprox.
4A	Fluorescent negative control Contrôle négatif fluorescent Fluoreszierende negative Kontrolle Controllo negativo fluorescente Control fluorescente negativo	FCT	n/a / n/d / nicht / zutreffend	n/a / n/d / nicht / zutreffend	Fluorescent coumarin derivative Dérivé coumarinique fluorescent Fluoreszierendes Coumarinderivat Derivato coumarinico fluorescente Derivado coumarínico fluorescente	≤ 1
2A	4MU-β-D-glucoside / Glukosid / glucósido	FGC	blue fluorescence >FCT well fluorescence bleue >puits FCT blaue Fluoreszenz >FCT Vertiefung fluorescencia blu >pozzetto FCT Fluorescencia azul >poçillo FCT	blue fluorescence ≤ FCT well fluorescence bleue ≤ puits FCT/ blaue Fluoreszenz ≤ FCT Vertiefung fluorescencia blu ≤ pozzetto FCT Fluorescencia azul ≤ poçillo FCT	4MU-β-D-glucoside / Glukosid / glucósido	≤ 1
1A	L-proline / Prolin / prolina-AMC	FPR	blue fluorescence >FCT well fluorescence bleue >puits FCT blaue Fluoreszenz >FCT Vertiefung fluorescencia blu >pozzetto FCT Fluorescencia azul >poçillo FCT	blue fluorescence ≤ FCT well fluorescence bleue ≤ puits FCT blaue Fluoreszenz ≤ FCT Vertiefung fluorescencia blu ≤ pozzetto FCT Fluorescencia azul ≤ poçillo FCT	L-proline / Prolin / prolina-AMC	≤ 1
4B	L-arginine / Arginin / arginina-AMC	FAR	blue fluorescence >FCT well fluorescence bleue >puits FCT blaue Fluoreszenz >FCT Vertiefung fluorescencia blu >pozzetto FCT Fluorescencia azul >poçillo FCT	blue fluorescence ≤ FCT well fluorescence bleue ≤ puits FCT blaue Fluoreszenz ≤ CT Vertiefung fluorescencia blu ≤ pozzetto FCT Fluorescencia azul ≤ poçillo FCT	L-arginine / Arginin / arginina-AMC	≤ 1
2B	L-methionine-AMC L-Méthionine-AMC L-Methionin-AMC L-metionina-AMC	FME	blue fluorescence >FCT well fluorescence bleue >puits FCT blaue Fluoreszenz >FCT Vertiefung fluorescencia blu >pozzetto FCT Fluorescencia azul >poçillo FCT	blue fluorescence ≤ FCT well fluorescence bleue ≤ puits FCT blaue Fluoreszenz ≤ FCT Vertiefung fluorescencia blu ≤ pozzetto FCT Fluorescencia azul ≤ poçillo FCT	L-methionine-AMC L-Méthionine-AMC L-Methionin-AMC L-metionina-AMC	≤ 1
1B	4MU-β-D-cellobioside / Cellobiosid / cellobiosido	FCE	blue fluorescence >FCT well fluorescence bleue >puits FCT blaue Fluoreszenz >FCT Vertiefung fluorescencia blu >pozzetto FCT Fluorescencia azul >poçillo FCT	blue fluorescence ≤ FCT well fluorescence bleue ≤ puits FCT blaue Fluoreszenz ≤ FCT Vertiefung fluorescencia blu ≤ pozzetto FCT Fluorescencia azul ≤ poçillo FCT	4MU-β-D-cellobioside / Cellobiosid / cellobiosido	≤ 1
4C	4MU-phosphate / Phosphat / fosfato	FHO	blue fluorescence >FCT well fluorescence bleue >puits FCT blaue Fluoreszenz >FCT Vertiefung fluorescencia blu >pozzetto FCT Fluorescencia azul >poçillo FCT	blue fluorescence ≤ FCT well fluorescence bleue ≤ puits FCT blaue Fluoreszenz ≤ FCT Vertiefung fluorescencia blu ≤ pozzetto FCT Fluorescencia azul ≤ poçillo FCT	4MU-phosphate / Phosphat / fosfato	≤ 1

(...continued...)

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

Panel Location / Pos. sur panel / Panel-Position / Posizione nel pannello / Posición en el panel	Substrate Substrat Substrato	Code Codice Código	Pos.	Neg. / Nég.	Active Ingredients Réactifs Reaktive Bestandteile Ingredienti attivi Ingredientes activos	Approx Amt. (g/L) Quantité approx. (g/L) Ungef. Menge (g/L) Quantità approssimativa (g/L) Cantidad approx.
2C	L-pyrogutamic acid-AMC Acide L-pyrogutamique-AMC L-Pyrogutaminsäure-AMC L-acido piroglutamico-AMC L-acido piroglútámico-AMC	FPY	blue fluorescence >FCT well fluorescence bleue >puits FCT blaue Fluoreszenz >FCT Vertiefung fluorescencia blu >pozetto FCT Fluorescencia azul >poçillo FCT	blue fluorescence ≤ FCT well fluorescence bleue ≤ puits FCT blaue Fluoreszenz ≤ FCT Vertiefung fluorescencia blu ≤ pozzetto FCT Fluorescencia azul ≤ poçillo FCT	L-pyrogutamic acid-AMC Acide L-pyrogutamique-AMC L-Pyrogutaminsäure-AMC L-acido piroglutamico-AMC L-acido piroglútámico-AMC	≤ 1
1C	L-tryptophan-AMC L-tryptophane-AMC L-Tryptophan-AMC L-triptofano-AMC L-triptófano-AMC	FTR	blue fluorescence >FCT well fluorescence bleue >puits FCT blaue Fluoreszenz >FCT Vertiefung fluorescencia blu >pozetto FCT Fluorescencia azul >poçillo FCT	blue fluorescence ≤ FCT well fluorescence bleue ≤ puits FCT blaue Fluoreszenz ≤ FCT Vertiefung fluorescencia blu ≤ pozzetto FCT Fluorescencia azul ≤ poçillo FCT	L-tryptophan-AMC L-tryptophane-AMC L-Tryptophan-AMC L-triptofano-AMC L-triptófano-AMC	≤ 1
4D	L-valine / Valin / valina-AMC	FVA	blue fluorescence >FCT well fluorescence bleue >puits FCT blaue Fluoreszenz >FCT Vertiefung fluorescencia blu >pozetto FCT Fluorescencia azul >poçillo FCT	blue fluorescence ≤ FCT well fluorescence bleue ≤ puits FCT blaue Fluoreszenz ≤ FCT Vertiefung fluorescencia blu ≤ pozzetto FCT Fluorescencia azul ≤ poçillo FCT	L-valine / Valin / valina-AMC	≤ 1
2D	L-phenylalanine / phénylalanine / Phenylalanin / fenilalanina-AMC	FPH	blue fluorescence >FCT well fluorescence bleue >puits FCT blaue Fluoreszenz >FCT Vertiefung fluorescencia blu >pozetto FCT Fluorescencia azul >poçillo FCT	blue fluorescence ≤ FCT well fluorescence bleue ≤ puits FCT blaue Fluoreszenz ≤ FCT Vertiefung fluorescencia blu ≤ pozzetto FCT Fluorescencia azul ≤ poçillo FCT	L-phenylalanine / phénylalanine / Phenylalanin / fenilalanina-AMC	≤ 1
1D	4MU-α-D-glucoside / Glukosid / glucósido	FGS	blue fluorescence >FCT well fluorescence bleue >puits FCT blaue Fluoreszenz >FCT Vertiefung fluorescencia blu >pozetto FCT Fluorescencia azul >poçillo FCT	blue fluorescence ≤ FCT well fluorescence bleue ≤ puits FCT blaue Fluoreszenz ≤ FCT Vertiefung fluorescencia blu ≤ pozzetto FCT Fluorescencia azul ≤ poçillo FCT	4MU-α-D-glucoside / Glukosid / glucósido	≤ 1
4E	Arabinose / Arabinosio / Arabinosa	ARA	Gold/Yellow / Or/Jaune / Gold/gelb / oro/giallo / Dorado/amarillo	Orange/Red / Orange/Rouge / orange/ rd / Arancio/rosso / Naranja/rojo	Arabinose / Arabinosio / Arabinosa	≤ 300
2E	Maltose / Maltosio / Maltosa	MAL	Gold/Yellow / Or/Jaune / Gold/gelb / oro/giallo / Dorado/amarillo	Orange/Red / Orange/Rouge / orange/ rd / Arancio/rosso / Naranja/rojo	Maltose / Maltosio / Maltosa	≤ 300
1E	Dextrin / Dextrine / Destrina	DXT	Gold/Yellow / Or/Jaune / Gold/gelb / oro/giallo / Dorado/amarillo	Orange/Red / Orange/Rouge / orange/ rd / Arancio/rosso / Naranja/rojo	Dextrin / Dextrine / Destrina	≤ 300
4F	Mannitol / Mannitolo / Manitol	MNT	Gold/Yellow / Or/Jaune / Gold/gelb / oro/giallo / Dorado/amarillo	Orange/Red / Orange/Rouge / orange/ rd / Arancio/rosso / Naranja/rojo	Mannitol / Mannitolo / Manitol	≤ 300
2F	Galactose / Galaktose / Galatósido / Galactosa	GAL	Gold/Yellow / Or/Jaune / Gold/gelb / oro/giallo / Dorado/amarillo	Orange/Red / Orange/Rouge / orange/ rd / Arancio/rosso / Naranja/rojo	Galactose / Galaktose / Galatósido / Galactosa	≤ 300

(...continued...)

(...continued...)

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

Panel Location / Pos. sur panel / Panel-Position / Posizione nel pannello / Posición en el panel	Substrate Substrat Substrato	Code Codice Código	Pos.	Neg. / Nég.	Active Ingredients Réactifs Reaktive Bestandteile Ingredienti attivi Ingredientes activos	Approx Amt. (g/L) Quantité approx. (g/L) Ungef. Menge (g/L) Quantità aprossimativa (g/L) Cantidad approx.
1F	N-acetyl-D-glucosamine N-Azetil-D-Glukosamin N-acetil-D-glucosamina	AGN	Gold/Yellow / Or/Jaune / Gold/gelb / oro/giallo / Dorado/amarillo	Orange/Red / Orange/Rouge / orange/ rot / Arancio/rosso / Naranja/rojo	N-acetyl-D-glucosamine N-Azetil-D-Glukosamin N-acetil-D-glucosamina	≤ 300
4G	Trehalose / Tréhalose / Trealosio / Trehalosa	TRE	Gold/Yellow / Or/Jaune / Gold/gelb / oro/giallo / Dorado/amarillo	Orange/Red / Orange/Rouge / orange/ rot / Arancio/rosso / Naranja/rojo	Trehalose / Tréhalose / Trealosio / Trehalosa	≤ 300
2G	Mannose Mannosio Manosa	MNS	Gold/Yellow / Or/Jaune / Gold/gelb / oro/giallo / Dorado/amarillo	Orange/Red / Orange/Rouge / orange/ rot / Arancio/rosso / Naranja/rojo	Mannose Mannosio Manosa	≤ 300
1G	Maltitriose Maltitriosio Maltitriosa	MIT	Gold/Yellow / Or/Jaune / Gold/gelb / oro/giallo / Dorado/amarillo	Orange/Red / Orange/Rouge / orange/ rot / Arancio/rosso / Naranja/rojo	Maltitriose Maltitriosio Maltitriosa	≤ 300
4H	ONPG & p-n-p-β-D-glucoside / Glukosid / glucósido	POG	Yellow / Jaune / gelb / Giallo / Amarillo	Colorless / Incolore / farblos / Incolore	ONPG & p-n-p-β-D-glucoside / Glukosid / glucósido	≤ 10
2H	p-n-p-α-D-glucoside / Glukosid / glucósido	AGL	Yellow / Jaune / gelb / Giallo / Amarillo	Colorless / Incolore / farblos / Incolore	p-n-p-α-D-glucoside / Glukosid / D-glucósido	≤ 10
1H	p-n-p-β-D-cellobioside / Cellobiosid / cellobiósid	PCE	Yellow / Jaune / gelb / Giallo / Amarillo	Colorless / Incolore / farblos / Incolore	p-n-p-β-D-cellobioside / Cellobiosid / cellobiósid	≤ 10
4I	p-n-p-β-D-glucoside / Glukosid / glucósido	BGL	Yellow / Jaune / gelb / Giallo / Amarillo	Colorless / Incolore / farblos / Incolore	p-n-p-β-D-glucoside / Glukosid / glucósido	≤ 10
2I	p-n-p-phosphate / Phosphat / fosfato	PHO	Yellow / Jaune / gelb / Giallo / Amarillo	Colorless / Incolore / farblos / Incolore	p-n-p-phosphate / Phosphat / fosfato	≤ 10
1I	p-n-p-β-D galactoside & p-n-p-α-D- galactoside / Galaktosid / galattoside / galactósido	PPG	Yellow / Jaune / gelb / Giallo / Amarillo	Colorless / Incolore / farblos / Incolore	p-n-p-β-D galactoside & p-n-p-α- D-galaktosid / Galaktosid / galattoside / galactósido	≤ 10
4J	Urea Urée Ureie Harnstoff	URE	Aqua/Blue / Bleu/Bleu-vert / aquamarin/blau / Verde acqua/blu / Verde azulado/azul	Yellow/Green / Jaune/Vert / gelb/grün / Giallo/verde / Amarillo/verde	Urea Urée Ureie Harnstoff	≤ 50
2J	Esculin / Esculine / Eskulin / Esculina	ESC	Brown/Maroon / Brun/Bordeaux / kastanien/braun / Bruno/Marrone / Pardo/rojo parduzco	Clear/Tan / Clair/Ocre / klar/gelbbraun / Chiaro/fanino / Incolore/café claro	Esculin / Esculine / Eskulin / Esculina	≤ 25
1J	Ornithine / Ornithin / Ornitina	ORN	Purple / Violet / Ilia / Porpora / Purpura	Yellow/Gray / Jaune/Gris / gelb/grau / Giallo/grigio / Amarillo/gris	Ornithine / Ornithin / Ornitina	≤ 200

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

Quality Control Chart for BD BBL™ Crystal™ RGP ID System After 4 Hours Incubation from TSA II or Columbia Blood Agar / Tableau de contrôle de qualité du système BD BBL Crystal RGP ID après 4 heures d'incubation à partir des géloses TSA II ou des géloses de sang Columbia / Qualitätskontroll-Tabelle für das BD BBL Crystal RGP-ID System Nach 4-stündiger Inkubation auf TSA II oder Columbia-Agar / Prospetto del controllo qualità per il sistema BD BBL Crystal RGP ID dopo 4 ore d'incubazione su agar TSA II o agar sangue Columbia / Plantilla del control de calidad para el sistema BD BBL Crystal RGP ID después de 4 horas de incubación en TSA II o agar sangre Columbia

Panel Location Pos. sur panel / Panel-Position / Posizione nel pannello / Posición en el panel	Substrate / Substrat / Substrato	Code Codice Código	<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615
4A	Fluorescent Negative Control / Contrôle négatif fluorescent / Fluoreszierende negative Kontrolle / Controllo negativo fluorescente / Control fluorescente negativo	FCT	—
2A	4MU-β-D-glucoside / Glukosid / glucósido	FGC	—
1A	L-proline / Prolin / prolina-AMC	FPR	V
4B	L-arginine / Arginin / arginina-AMC	FAR	+
2B	L-methionine / Méthionine / Methionin / metionina-AMC	FME	+
1B	4MU-β-D-cellobioside / Cellobiosid / celobiósido	FCE	—
4C	4MU-phosphate / Phosphat / fosfato	FHO	+
2C	L-pyroglutamic acid-AMC / Acide L-pyroglutamique-AMC / L-Pyroglutaminsäure-AMC / L-acido piroglutamico-AMC / L-ácido piroglutámico-AMC	FPY	+
1C	L-tryptophan / tryptophane / Tryptophan / triptofano / triptófano-AMC	FTR	+
4D	L-valine / Valin / valina-AMC	FVA	+
2D	L-phenylalanine / phénylalanine / Phenylalanin / fenilalanina-AMC	FPH	+
1D	4MU-α-D-glucoside / Glukosid / glucósido	FGS	+
4E	Arabinose / Arabinosio / Arabinosa	ARA	—
2E	Maltose / Maltosio / Maltosa	MAL	+
1E	Dextrin / Dextrine / Dextrina / Dextrina	DXT	+
4F	Mannitol / Mannitolo / Manitol	MNT	—
2F	Galactose / Galaktose / Galatiósido / Galactosa	GAL	V
1F	N-acetyl-D-glucosamine / N-Azetyl-D-Glukosamin / N-acetil-D-glucosamina	AGN	+
4G	Trehalose / Tréhalose / Trealosio / Trehalosa	TRE	+
2G	Mannose / Mannosio / Manosa	MNS	+
1G	Maltotriose / Maltotriosio / Maltotriosia	MTT	+
4H	ONPG & p-n-p-β-D-glucoside / Glukosid / glucósido	POG	V
2H	p-n-p-α-D-glucoside / Glukosid / glucósido	AGL	V
1H	p-n-p-β-D-cellobioside / Cellobiosid / celobiósido	PCE	—
4I	p-n-p-β-D-glucoside / Glukosid / glucósido	BGL	V
2I	p-n-p-phosphate / Phosphat / fosfato	PHO	+
1I	p-n-p-β-D-galactoside & p-n-p-α-D-galactoside / Galaktosid galatiósido / galactósido	PPG	V
4J	Urea / Urée / Harnstoff	URE	—
2J	Esculin / Esculine / Eskulin / Esculina	ESC	—
1J	Ornithine / Ornithin / Omitina	ORN	—

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

Additional Quality Control Strains for BD BBL™ Crystal™ RGP ID System After 4 Hours Incubation from TSA II or Columbia Blood Agar / Tableau supplémentaire de contrôle de qualité du système BD BBL Crystal RGP ID après 4 heures d'incubation à partir des géloses de sang Columbia / Zusätzliche Qualitätskontroll-Stämme für das BD BBL Crystal RGP-ID System Nach 4-stündiger Inkubation auf TSA II oder Columbia-Agar / Ceppi supplementari di controllo qualità per il sistema BD BBL Crystal RGP ID dopo 4 ore d'incubazione su agar TSA II o agar sangue Columbia / Cepas adicionales del control de calidad para el sistema BD BBL Crystal RGP ID después de 4 horas de incubación en TSA II o agar sangre Columbia

Panel Location Pos. sur panel / Panel-Position / Posizione nel pannello / Posición en el panel	Substrate / Substrat / Substrato	Code Codice Código	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	<i>Bacillus brevis</i> ATCC 8246	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6303
4A	Fluorescent negative control / Contrôle négatif fluorescent / Fluoreszierende negative Kontrolle / Controllo negativo fluorescente / Control fluorescente negativo	FCT	-	-	-	-
2A	4MU-β-D-glucoside / Glukosid / glucósido	FGC	-	-	+	-
1A	L-proline / Prolin / prolina-AMC	FPR	-	+	-	+
4B	L-arginine / Arginin / arginina-AMC	FAR	V	V	-	+
2B	L-methionine / Méthionine / Methionin / metionina-AMC	FME	-	+	V	+
1B	4MU-β-D-cellobiose / Cellobiosid / celobiosido	FCE	-	-*	+	-
4C	4MU-phosphate / Phosphat / fosfato	FHO	+	-	V	-
2C	L-pyroglutamic acid-AMC / Acide L-pyrroglutamique-AMC / L-Pyrroglutaminsäure-AMC / L-acido pirroglutámico-AMC / L-ácido pirolutámico-AMC	FPY	-	+	V	-
1C	L-tryptophan / tryptophane / Tryptophan / triptófano / triptófano-AMC	FTR	-	+	+	+
4D	L-valine / Valin / valina-AMC	FVA	-	V	-	+
2D	L-phenylalanine / phénylalanine / Phenylalanin / fenilalanina-AMC	FPH	-	+	+	+
1D	4MU-α-D-glucoside / Glukosid / glucósido	FGS	-	-	+	+
4E	Arabinose / Arabinosio / Arabinosa	ARA	-	-	-	-
2E	Maltose / Maltosio / Maltosa	MAL	V*	-	+	V
1E	Dextrin / Dextrine / Dextrina	DXT	-	-	+	V
4F	Mannitol / Mannitolo / Manitol	MNT	-	-	+	-
2F	Galactose / Galaktose / Galactósido / Galactosa	GAL	-	-	+	-
1F	N-acetyl-D-glucosamine / N-Azetyl-D-Glukosamin / N-acetil-D-glucosamina	AGN	-	-	+	V
4G	Trehalose / Tréhalose / Trehalosa	TRE	-	-	+	V

KEY: * = 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 / variable cuando se prueba en agar sangre Columbia.

(...continued...)

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

Panel Location Pos. sur panel / Panel-Position / Posizione nel pannello / Posición en el panel	Substrate / Substrat / Substrato	Code Codice Código	Staphylococcus epidermidis ATCC 12228	Bacillus brevis ATCC 8246	Enterococcus faecalis ATCC 19433	Streptococcus pneumoniae ATCC 6303
2G	Mannose / Mannosio / Manosa	MNS	-	-	+	V
1G	Maltotriose / Maltotrioso / Maltotriosia	MTT	-	-	+	V
4H	ONPG & p-n-p-D-glucoside / Glukosid / glucósido	POG	-*	-	+	+
2H	p-n-p-α-D-glucoside / Glukosid / glucósido	AGL	V	-	+	V
1H	p-n-p-D-oellobioside / Cellobiosid / celobiosido	PCE	-	-	+	-
4I	p-n-p-β-D-glucoside / Glukosid / glucósido	BGL	-	-	+	V
2I	p-n-p-phosphate / Phosphat / fosfato	PHO	V	-	-	-
1I	p-n-p-β D-galactoside & p-n-p-α- D-galactoside / Galaktosid / galactósido	PPG	V	-	-	+
4J	Urea / Urée / Harnstoff	URE	+	V	-	-
2J	Esculin / Esculine / Eskulin / Esculina	ESC	V	V	+	-
1J	Ornithine / Ornithin / Ornitina	ORN	V	+	-	V

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



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



Use by / Използвайте до / Spoftebujete do / Brug før / Verwendbar bis / Χρήση έως / Usar antes de / Kasutada enne / Date de péremption / Upotřebiti do / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Дейин пайдаланура / Naudokite iki / Izlietot līdz / Houdbaar tot / Brukes for / Stosować do / Prazo de validade / A se utiliza până la / Использовать до / Použít do / Upotrebiti do / Använd före / Son kulanma tarihi / Використати до/line

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



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



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



In Vitro Diagnostic Medical Device / Медицински уред за диагностика ин витро / Lékařské zařízení určené pro diagnostiku in vitro / In vitro diagnostisk medicinsk anordning / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / In vitro diagnostika meditsinīaparatur / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medicinska pomagala za In Vitro Dijagnostiku / In vitro diagnosztikai orvosi eszköz / Dispositivo medicale per diagnostica in vitro / Жасанды жағдайда жұризетін медициналық диагностика аспабы / In vitro diagnostikos prietaisai / Medicinas ierices, ko lieto in vitro diagnostikā / Medisch hulpmiddel voor in-vitro diagnostiek / In vitro diagnostisk mediskins utstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Dispozitiv medical pentru diagnostic in vitro / Медицинский прибор для диагностики in vitro / Medicinska pomôcka na diagnostiku in vitro / Medicinski uređaj za in vitro dijagnostiku / Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik / In Vitro Diyagnostik Tibbi Cihaz / Медичний пристрій для діагностики in vitro



Temperature limitation / Температурни ограничения / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning / Temperaturbegrenzung / Περιορισμοί θερμοκρασίας / Limitación de temperatura / Temperaturi piirang / Limites de température / Dozvoljena temperatura / Hőmérsékleti határ / Limiti di temperatura / Temperaturuuri shekre / Laikymo temperatūra / Temperaturāras ierobežojumi / Temperaturlimit / Temperaturbegrenzung / Ograniczenie temperatury / Limites de temperatura / Limite de temperatură / Ограничение температуры / Ohraničenje teploty / Ograničenje temperature / Temperaturgräns / Sıcaklık sınırlaması / Обмеження температури



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



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



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



Benex Limited
Pottery Road
Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

Australian Sponsor:

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