

BD BBL™ Taxo™ Discs for Presumptive Identification of Gram-Negative Anaerobic Bacilli

English: pages 1 – 2 Italiano: pagine 5 – 6

Français: pages 2 – 3 Español: páginas 6 – 8

Deutsch: Seiten 4 – 5

CE 8840221JAA(02)
2015-04

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 képviselőjétől. / Нұсқаулар үшін жергілікті BD өкілімен хабарласыңыз. / Lai saņemtu norādījumus, sazinieties ar vietējo BD pārstāvi. / Naudojimo instrukcijų teiraukitės vietos BD įgaliotojo atstovo. / Neem contact op met uw plaatselijke BD-vertegenwoordiger voor instructies. / Kontakt din lokale BD-representant for mer informasjon. / Aby uzyskać instrukcje użytkowania, skontaktuj się z lokalnym przedstawicielstwem BD. / Contacte o reprezentante local da BD para instruções. / Pentru instrucțiuni, contactați reprezentantul local BD. / Для получения указаний обратитесь к местному представителю компании BD. / Inštrukcie získate u miestneho zástupcu spoločnosti BD. / Obratite se svom lokalnom predstavniku kompanije BD za uputstva. / Kontakta närmaste BD-representant för anvisningar. / Talimatlar için yerel BD temsilcinizle temasa geçin. / За інструкціями зверніться до місцевого представника компанії BD.

INTENDED USE

These discs are recommended for use in the presumptive identification of gram-negative anaerobic bacilli based on differences in susceptibility to antimicrobial agents. *This procedure is not for use for therapeutic purposes.*

SUMMARY AND EXPLANATION

Sutter and Finegold reported on the value of special-potency antibiotic discs in differentiating *Bacteroides* and *Fusobacterium* spp. on the basis of antibiotic inhibition patterns.¹ The patterns, along with colonial and microscopic observations and a limited number of biochemical tests, permitted the rapid presumptive identification of anaerobic bacilli. A similar differentiation protocol was adopted by the Centers for Disease Control (CDC).²

Sutter et al. recommend the use of kanamycin 1 mg, vancomycin 5 µg and colistin 10 µg discs with pure cultures streaked on Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K₁, with a 10 mm zone size breakpoint for reporting susceptibility or resistance.³ The CDC protocol utilizes penicillin 2 units, rifampin 15 µg and kanamycin 1 mg discs on CDC Anaerobe Blood Agar, an enriched medium supplemented with hemin and Vitamin K₁, with larger zone size criteria.² The **BBL** test protocol utilizes these five discs on either medium and the 10 mm zone size breakpoint.

PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

These discs are used for the differentiation of gram-negative anaerobic bacilli on the basis of *in vitro* testing of pure cultures against selected antimicrobial agents using the agar diffusion method. Growth of the microorganisms may be inhibited by the antimicrobial agent diffusing out from the disc, resulting in a zone of inhibition around the disc. Differentiation is based on the presence of zones of inhibition of equal to or greater than 10 mm (susceptible) or less than 10 mm (resistant).

PRODUCT DESCRIPTION

These 1/4" discs are made from high quality absorbent paper impregnated with accurately determined amounts of antimicrobial agents. They are furnished in cartridges containing 50 discs each. The last disc in each cartridge is marked "X" and contains the drug as coded. Cartridges are for use in **BBL** single disc dispensers.

Warnings and Precautions:

For *in vitro* Diagnostic Use.

The **Taxo** Kanamycin 1 mg and **Taxo** Rifampin 15 µg discs are not for use in susceptibility testing for therapeutic purposes.

Observe aseptic techniques and established precautions against microbiological hazards throughout all procedures. After use, test plates and other contaminated materials must be sterilized by autoclaving.

Storage Instructions:

- On receipt, store containers of discs at -20 to +8 °C. If the laboratory refrigerator is frequently opened and closed, and a suitable temperature is **not** maintained, place there a supply sufficient only for use within a week.
- Allow containers to come to room temperature before opening. Return unused discs to the refrigerator when application of discs has been completed.
- Use the oldest discs first.
- Discard expired discs. Also discard cartridges from which discs have been frequently removed during a week. Discard discs left out overnight in the laboratory, or test the discs for performance.
- If the discs form incorrect zones with the recommended control organism, the entire procedure should be checked; a faulty zone may be due to the disc, the inoculation, the preparation or depth of the medium or other factors.

The expiration date applies to discs in the intact container, stored as directed.

SPECIMENS

These discs are not for use directly with clinical specimens or other sources containing mixed flora. The organism to be presumptively identified first must be isolated as separate colonies by streaking the specimen onto appropriate culture media.

PROCEDURE

Material Provided: In this package are discs for the differentiation of gram-negative anaerobic bacilli as labeled.

Materials Required But Not Provided: Ancillary culture media, reagents, quality control organisms and laboratory equipment as required for this procedure.

Test Procedure:

- Preparation of inoculum with test and control cultures
 - Prior to inoculation, loosen the cap of a tube of inoculum broth (e.g., Schaedler Broth with Vitamin K₁ or suitable alternative medium) and heat in a boiling water bath to drive off oxygen, retighten the cap and cool to room temperature, or reduce the inoculum broth overnight in an anaerobic jar.
 - Perform a Gram stain. Use only pure cultures.
 - Select three or four similar colonies and inoculate the inoculum broth.
 - Incubate anaerobically at 35 °C for 18 to 24 h or until heavy turbidity is observed; adjust the turbidity to be comparable to a McFarland No. 1 barium sulfate standard.
- Inoculation
 - Pre-warm to room temperature plates of CDC Anaerobe Blood Agar or Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K₁. Agar surfaces should be smooth and moist.
 - Within 15 min of adjusting the turbidity of the inoculum, dip a sterile swab into the properly diluted inoculum and rotate it firmly several times against the upper inside wall of the tube to express the excess fluid.
 - Inoculate the entire agar surface three times, turning the plate 60° between streakings to obtain even inoculation.
 - Replace the lid of the plate and hold for 3 to 5 min at room temperature to allow absorption of the moisture from the inoculum.
 - Apply the discs evenly spaced to the inoculated agar surface with sterile forceps or single disc dispenser and tamp with a sterile needle or forceps to make complete contact with the medium surface.
 - Incubate immediately at 35 °C under anaerobic conditions.
 - Examine the plates after 48 h. Measure and record each zone of inhibition to the nearest millimeter: less than 10 mm as resistant; equal to or greater than 10 mm as susceptible.

User Quality Control: Control tests using known cultures should be included each time a susceptibility test is performed. The following organisms are recommended:

Organism	Antimicrobial Agent and Code				
	Kanamycin K	Rifampin RA	Penicillin P-2	Vancomycin Va-5	Colistin CL-10
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC® 25285	R	S	R	R	R
<i>Fusobacterium mortiferum</i> ATCC 9817	S	R	S	R	S

S = Susceptible (zones ≥ 10 mm) R = Resistant (zones < 10 mm)

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

RESULTS

Compare reactivity patterns with those in the table.

Inhibition of *Bacteroides* and *Fusobacterium* Species with Antibiotic Discs[†]

Organism	Antimicrobial Agent and Code				
	Kanamycin K	Rifampin RA	Penicillin P-2	Vancomycin Va-5	Colistin CL-10
<i>B. fragilis</i> group*	R	S	R	R	R
<i>P. melaninogenica</i>	R ^S	S	S	R ^S	S ^r
<i>P. buccalis</i> and <i>P. veroralis</i>	R	S	S	R ^S	S ^r
<i>B. ureolyticus</i>	S	S	S	R	S
<i>F. mortiferum</i>	S	R	S ^r	R	S
<i>F. varium</i>	S	R	S ^r	R	S
<i>F. necrophorum</i>	S	S	S	R	S
<i>F. nucleatum</i>	S	S	S	R	S

S = Susceptible (zones \geq 10 mm); S^r = majority of strains susceptible.

R = Resistant (zones < 10 mm); R^S = majority of strains resistant.

[†] Data were obtained on CDC Anaerobe Blood Agar and Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K₁.

* The *B. fragilis* group includes *B. fragilis*, *B. distasonis*, *B. ovatus*, *B. thetaiotaomicron*, *B. vulgatus* and *B. uniformis*.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

The references should be consulted for the complete schema of morphological and biochemical characteristics that, along with these antibiotic inhibition patterns, enable a presumptive identification to be made.¹⁻⁴ Following presumptive identification, definitive identification procedures should be performed to establish the validity of the presumptive identification. Appropriate references should be consulted for additional information.²⁻⁸

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Prior to release, all lots of **BBL Taxo** Anaerobe Differentiation Discs are tested to verify specific product characteristics. Samples are assayed for the potency of each of the antimicrobial agents contained in the kit.

Additionally, plates of CDC Anaerobe 5% Sheep Blood Agar and Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K₁ are swab-inoculated with cultures of *Bacteroides fragilis* (ATCC 25285) and *Fusobacterium mortiferum* (ATCC 9817). Samples are placed on the inoculated plates and incubated at 35 \pm 2 °C under anaerobic conditions. After 48 h incubation, the plates are then read for zones of inhibition around each disc. *B. fragilis* is resistant (< 10 mm) to kanamycin, penicillin, vancomycin and colistin and susceptible (\geq 10 mm) to rifampin. *F. mortiferum* is resistant (< 10 mm) to rifampin and vancomycin and susceptible (\geq 10 mm) to kanamycin, penicillin and colistin.

AVAILABILITY

Cat. No. Description

231651 **BD BBL™ Taxo™** Anaerobe Differentiation Discs Set, 50 tests

Set components – one cartridge of 50 discs of each of the following antimicrobial agents:

BBL™ Taxo™ Kanamycin, 1 mg

BBL™ Taxo™ Rifampin, 15 μ g

Sensi-Disc™ Penicillin, 2 units

Sensi-Disc™ Vancomycin, 5 μ g

Sensi-Disc™ Colistin, 10 μ g

231562 **BD BBL™ Taxo™** Kanamycin, 1 mg Discs, Single cartridge of 50 discs

REFERENCES

1. Sutter, V.L., and S.M. Finegold. 1971. Antibiotic disc susceptibility tests for rapid presumptive identification of gram-negative anaerobic bacilli. Appl. Microbiol. 21:13-20.
2. Dowell, V.R., Jr., and G.L. Lombard. 1977. Presumptive identification of anaerobic nonsporeforming gram-negative bacilli. Center for Disease Control, Atlanta.
3. Sutter, V.L., D.M. Citron, M.A.C. Edelstein, and S.M. Finegold. 1985. Wadsworth anaerobic bacteriology manual, 4th ed. Star Publishing Co., Belmont, Ca.
4. Finegold, S.M., and M.A.C. Edelstein. 1985. Gram-negative, nonsporeforming anaerobic bacilli, p. 450-460. In E.H. Lennette, A. Balows, W.J. Hausler, Jr., and H.J. Shadomy (ed.), Manual of clinical microbiology, 4th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. Holdeman, L.V., E.P. Cato, and W.E.C. Moore (ed.). 1977. Anaerobic laboratory manual, 4th ed. Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, Va.
6. Dowell, V.R., and T.M. Hawkins. 1979. Laboratory methods in anaerobic bacteriology, CDC manual. HEW publication (CDC) 79-8272. Center for Disease Control, Atlanta.
7. Kreig, N.R., and J.G. Holt (ed.). 1984. Bergey's manual of systematic bacteriology, vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore.
8. Summamen, P., E.J. Baron, D.M. Citron, C. Strong, H.M. Wexler, S.M. Finegold. 1993. Wadsworth anaerobic bacteriology manual, 5th ed. Star Publishing Co., Belmont, Ca.

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

BD BBL Taxo Discs pour l'identification présumptive des bacilles anaérobies à Gram négatif

Français

APPLICATION

Ces disques sont recommandés pour l'identification présumptive des bacilles anaérobies à Gram négatif d'après les différences de sensibilité aux agents antimicrobiens. *Ne pas employer cette méthode à des fins thérapeutiques.*

RESUME ET EXPLICATION

Les travaux de Sutter et Finegold ont démontré l'intérêt des disques imprégnés d'antibiotiques d'activité donnée pour différencier *Bacteroides* et *Fusobacterium* spp. d'après les profils d'inhibition par les antibiotiques.¹ Les profils de sensibilité, l'observation de la morphologie des colonies et l'observation microscopique associés à un petit nombre de tests biochimiques suffisent à l'identification présumptive rapide des bacilles anaérobies. Un protocole de différenciation similaire a été retenu par le Centers for Disease Control (CDC).²

Sutter et al. ont préconisé l'utilisation de disques imprégnés de kanamycine (1 mg), vancomycine (5 μ g) ou colistine (10 μ g) sur une gélose au sang pour *Brucella*, complétée d'hémine et de vitamine K₁, ensemencée en stries avec des cultures pures, et d'un diamètre de transition résistant/sensible de 10 mm pour la zone d'inhibition.³ Le protocole du CDC utilise des disques imprégnés de pénicilline (2 unités), rifampine (15 μ g) ou kanamycine (1 mg) sur une gélose au sang anaérobie du CDC, un milieu enrichi complété d'hémine et de vitamine K₁ sur lequel les diamètres de transition des zones d'inhibition sont plus grands.² Le protocole du test **BBL** utilise ces cinq disques sur chaque milieu et un diamètre de transition de 10 mm pour la zone d'inhibition.

PRINCIPES DE LA METHODE

Ces disques servent à différencier des bacilles anaérobies à Gram négatif d'après des tests de sensibilité à des agents antimicrobiens spécifiques, réalisés *in vitro* par la méthode de diffusion en gélose sur des cultures pures. La croissance des microorganismes peut être inhibée par l'agent antimicrobien diffusant à partir du disque, d'où la présence d'une zone d'inhibition autour du disque. La différenciation repose sur la présence d'une zone d'inhibition de diamètre supérieur ou égal à 10 mm (sensible) ou inférieur à 10 mm (résistant).

DESCRIPTION

Ces disques de 6 mm de diamètre sont constitués de papier absorbant de haute qualité, imprégné de quantités précisément dosées d'agents antimicrobiens. Ils sont fournis en cartouches de 50 disques chacune. Un << X >> sur le dernier disque de chaque cartouche indique que celui-ci contient le médicament codé. Les cartouches s'utilisent avec les distributeurs de disque unique **BBL**.

Avertissements et précautions :

Réservé au diagnostic *in vitro*.

Ne pas utiliser les disques **Taxo** Kanamycine (1 mg) et **Taxo** Rifampine (15 μ g) pour réaliser des tests de sensibilité à des fins thérapeutiques.

Respecter les techniques d'asepsie et prendre les précautions en vigueur contre les dangers microbiologiques. Après utilisation, stériliser à l'autoclave les boîtes de test et les autres matériaux contaminés.

Instructions pour la conservation :

1. Dès réception, conserver les cartouches de disques entre -20 et +8 °C. Si le réfrigérateur du laboratoire est fréquemment ouvert et que la température préconisée n'est pas assurée, n'y placer que la quantité de disques suffisante pour une semaine.
2. Laisser les cartouches se réchauffer jusqu'à la température ambiante avant de les ouvrir. Remettre les disques inutilisés au réfrigérateur une fois que les disques ont été appliqués.

- Utiliser les disques les moins récents en premier.
- Jeter les disques dont la date de péremption est dépassée. Jeter également les cartouches desquelles on a fréquemment prélevé des disques pendant la semaine. Jeter les disques laissés toute une nuit à température ambiante, ou contrôler leurs performances.
- Si les zones d'inhibition formées par les disques avec le microorganisme de contrôle conseillé ne sont pas conformes, la méthode doit être vérifiée dans son ensemble ; cette erreur peut être due au disque, à l'ensemencement, à la préparation ou à la profondeur du milieu, ou encore à d'autres facteurs.

La date de péremption s'applique aux disques conservés dans la cartouche intacte et dans les conditions préconisées.

ECHANTILLONS

Ne pas utiliser ces disques directement avec des échantillons cliniques ou d'autres sources contenant un mélange de flores microbiennes. Le microorganisme à identifier de façon présomptive doit être isolé au préalable sous forme de colonies séparées en striant des milieux de culture appropriés avec l'échantillon.

METHODE

Matériaux fournis : Ce coffret contient des disques servant à la différenciation des bacilles anaérobies à Gram négatif comme indiqué sur l'étiquette.

Matériaux requis mais non fournis : Milieux de culture auxiliaires, réactifs, souches de contrôle de qualité et matériel de laboratoire requis pour cette méthode.

Mode opératoire du test :

- Préparation de l'inoculum avec les cultures de contrôle et les cultures de l'échantillon à analyser
 - Avant d'ensemencer, desserrer le bouchon d'un tube de bouillon d'ensemencement, comme du bouillon de Schaedler avec vitamine K₁ ou un milieu équivalent, puis chauffer au bain-marie à ébullition pour expulser l'oxygène, revisser le bouchon et laisser refroidir jusqu'à la température ambiante ; ou réduire le bouillon d'ensemencement pendant une nuit dans une enceinte anaérobie.
 - Faire une coloration de Gram. Utiliser exclusivement des cultures pures.
 - Choisir 3 ou 4 colonies similaires et inoculer le bouillon d'ensemencement.
 - Incuber en conditions anaérobies à 35 °C pendant 18 à 24 h ou jusqu'à obtention d'une turbidité importante ; ajuster la densité de la suspension à celle d'un standard au sulfate de baryum McFarland no 1.
- Ensemencement
 - Préchauffer à température ambiante des boîtes de gélose au sang anaérobie du CDC ou de gélose au sang pour *Brucella* complétée d'hémine et de vitamine K₁. La surface de la gélose doit être lisse et humide.
 - Dans les 15 min qui suivent l'ajustement de la turbidité de l'inoculum, tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum dilué et le faire tourner plusieurs fois en le pressant fermement contre la paroi interne du haut du tube pour en exprimer l'excès de bouillon.
 - Ensemencer à trois reprises la totalité de la surface de la gélose, en faisant pivoter la boîte de 60° à chaque fois de façon à assurer un ensemencement uniforme.
 - Replacer le couvercle sur la boîte et laisser reposer pendant 3 à 5 min à température ambiante pour permettre à l'humidité dégagée par l'inoculum de s'absorber.
 - A l'aide de pinces stériles ou d'un distributeur de disque unique, déposer les disques à la surface de la gélose ensemencée en les espaçant régulièrement, puis les y appliquer avec une aiguille ou une pince stérile pour assurer un bon contact avec la gélose.
 - Incuber immédiatement à 35 °C en conditions anaérobies.
 - Examiner les boîtes après 48 h. Mesurer le diamètre de chaque zone d'inhibition en arrondissant au millimètre le plus proche : reporter un résultat << résistant >> pour un diamètre inférieur à 10 mm et << sensible >> pour un diamètre supérieur ou égal à 10 mm.

Contrôle de qualité par l'utilisateur : Inclure des tests de contrôle sur des cultures caractérisées à chaque test de sensibilité. Les microorganismes suivants sont recommandés :

Agent antimicrobien et code					
Microorganisme	Kanamycine K	Rifampicine RA	Pénicilline P-2	Vancomycine Va-5	Colistine CL-10
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC™ 25285	R	S	R	R	R
<i>Fusobacterium mortiferum</i> ATCC 9817	S	R	S	R	S

S = sensible (diamètre de zone ≥ 10 mm)

R = résistant (diamètre de zone < 10 mm)

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

RESULTATS

Comparer les profils de sensibilité avec ceux du tableau.

Inhibition des espèces de *Bacteroides* et *Fusobacterium* avec des disques imprégnés d'antibiotiques†

Agent antimicrobien et code					
Microorganisme	Kanamycine K	Rifampicine RA	Pénicilline P-2	Vancomycine Va-5	Colistine CL-10
Groupe <i>B. fragilis</i> *	R	S	R	R	R
<i>P. melaninogenica</i>	R ^S	S	S	R ^S	S ^r
<i>P. buccalis</i> et <i>P. veroralis</i>	R	S	S	R ^S	S ^r
<i>B. ureolyticus</i>	S	S	S	R	S
<i>F. mortiferum</i>	S	R	S ^r	R	S
<i>F. varium</i>	S	R	S ^r	R	S
<i>F. necrophorum</i>	S	S	S	R	S
<i>F. nucleatum</i>	S	S	S	R	S

S = sensible (diamètre de zone ≥ 10 mm) ; S^r = la majorité des souches sont sensibles.

R = résistant (diamètre de zone < 10 mm) ; R^S = la majorité des souches sont résistantes.

† Résultats obtenus sur gélose au sang anaérobie du CDC et gélose au sang pour *Brucella* complétée d'hémine et de vitamine K₁

* Le groupe *B. fragilis* comprend *B. fragilis*, *B. distasonis*, *B. ovatus*, *B. thetaiotaomicron*, *B. vulgatus* et *B. uniformis*.

LIMITES DE LA PROCEDURE

Consulter les publications citées pour plus d'informations sur les caractéristiques morphologiques et biochimiques servant à effectuer une identification présomptive conjointement avec ces profils d'inhibition de la croissance par les antibiotiques.¹⁻⁴ Des méthodes d'identification définitive doivent être mises en œuvre pour établir la validité de l'identification présomptive. Consulter les publications citées en référence pour plus d'informations.²⁻⁸

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

Les caractéristiques de performances de tous les lots de **BBL Taxo Anaerobe Differentiation Discs** sont testées en usine. Des échantillons sont analysés afin de tester la réactivité de chacun des agents antimicrobiens contenus dans la trousse.

En outre, des boîtes de gélose anaérobie du CDC complétée de 5 % de sang de mouton et de gélose au sang pour *Brucella* complétée d'hémine et de vitamine K₁ sont ensemencées à l'écouvillon avec des cultures de *Bacteroides fragilis* (ATCC 25285) et *Fusobacterium mortiferum* (ATCC 9817). Des échantillons sont déposés sur les boîtes ensemencées, puis incubés à 35 ± 2 °C en conditions anaérobies. Après 48 h d'incubation, les boîtes sont examinées et le diamètre des zones d'inhibition autour de chaque disque est mesuré. *B. fragilis* est résistant (< 10 mm) à la kanamycine, la pénicilline, la vancomycine et la colistine, et sensible (≥ 10 mm) à la rifampicine. *F. mortiferum* est résistant (< 10 mm) à la rifampicine et la vancomycine, et sensible (≥ 10 mm) à la kanamycine, la pénicilline et la colistine.

CONDITIONNEMENT

No réf. Description

231651 **BD BBL Taxo Anaerobe Differentiation Discs Set**, 50 tests

Composants du jeu - une cartouche de 50 disques imprégnés de chacun des agents antimicrobiens suivants :

BBL Taxo Kanamycin, 1 mg

BBL Taxo Rifampin, 15 µg

Sensi-Disc Penicillin, 2 unités

Sensi-Disc Vancomycin, 5 µg

Sensi-Disc Colistin, 10 µg

231562 **BD BBL Taxo Kanamycin**, disques dosés à 1 mg, cartouche simple de 50 disques

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

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

BD BBL Taxo-Testblättchen zur präsumtiven Identifizierung von gramnegativen anaeroben Bazillen

Deutsch

VERWENDUNGSZWECK

Diese Testblättchen sind empfohlen zur Präsumtivbestimmung von gramnegativen anaeroben Bazillen auf der Grundlage unterschiedlicher Empfindlichkeiten gegenüber Antibiotika. *Dieses Verfahren ist nicht zu Therapiezwecken einzusetzen.*

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Sutter und Finegold berichteten über den Nutzen von Antibiotikablättchen mit spezieller Dosierung für die Differenzierung von *Bacteroides*- und *Fusobacterium*-Spezies auf der Grundlage von Wachstumshemmungen.¹ Diese Hemmzonen erlaubten in Zusammenhang mit Koloniauszählungen, Beobachtungen unter dem Mikroskop und einer beschränkten Zahl biochemischer Tests eine schnelle Präsumtivbestimmung von anaeroben Bazillen. Ein ähnliches Differenzierungsprotokoll wird inzwischen auch von den Centers for Disease Control (CDC) angewendet.²

Sutter et al. empfehlen die Verwendung von Blättchen mit 1 mg Kanamycin, 5 µg Vancomycin und 10 µg Colistin für auf Brucella-Blutagar mit Häm in und Vitamin K₁ ausgestrichenen Reinkulturen. Grenzwert für die Entscheidung über Empfindlichkeit oder Resistenz sollte die Ausbildung einer 10 mm großen Wachstumszone sein.³ Nach dem CDC-Protokoll werden Blättchen mit 2 I.E. Penicillin, 15 µg Rifampin und 1 mg Kanamycin auf anaerobem CDC-Blutagar, d.h. einem mit Häm in und Vitamin K₁ angereicherten Medium, verwendet; die als Grenzwert angesetzte Zonengröße liegt etwas höher.² Das **BBL**-Testprotokoll verwendet die fünf verschiedenen Antibiotikablättchen auf beiden genannten Medien mit einer 10 mm großen Wachstumszone als Grenzwert.

VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Diese Testblättchen dienen zur Differenzierung von gramnegativen anaeroben Bazillen auf der Grundlage von *In-vitro*-Tests von Reinkulturen gegenüber ausgewählten Antibiotika unter Verwendung des Agar-Diffusionsverfahrens. Das Wachstum der Mikroorganismen kann durch das Antibiotikum gehemmt werden, das aus dem Blättchen herausdiffundiert, sodass sich um das Blättchen eine Hemmzone ausbildet. Die Differenzierung basiert auf der Größe der Hemmzonen: Hemmzone größer als 10 mm (empfindlich); Hemmzone kleiner als 10 mm (resistent).

BESCHREIBUNG

Diese ca. 6 mm großen Blättchen bestehen aus qualitativ hochwertigem saugfähigem Papier mit einem genau bemessenen Antibiotikagehalt. Sie werden in Kartuschen mit jeweils 50 Blättchen geliefert. Das letzte Blättchen in jeder Kartusche ist mit einem "X" gekennzeichnet und enthält das laut Code angegebene Antibiotikum. Die Kartuschen sind zur Verwendung mit **BBL**-Einzelblättchenspendern bestimmt.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen:

In-vitro-Diagnostikum.

Die **Taxo**-Blättchen mit 1 mg Kanamycin und mit 15 µg Rifampin dürfen nicht für Empfindlichkeitstests zu therapeutischen Zwecken verwendet werden.

Der Umgang mit mikrobiologischem Material sollte bei allen Verfahren unter Einhaltung der allgemein üblichen Vorsichtsmaßnahmen und Anwendung aseptischer Techniken erfolgen. Nach Gebrauch sind die Objektträger und andere kontaminierte Objekte im Autoklaven zu sterilisieren.

Aufbewahrung:

- Behälter nach Erhalt bei -20 bis +8 °C aufbewahren. Wird der Laborkühlschrank häufig geöffnet und geschlossen und die richtige Temperatur kann **nicht** aufrechterhalten werden, nur die für eine Woche ausreichende Menge Blättchen in diesem Kühlschrank lagern.
- Behälter vor dem Öffnen auf Raumtemperatur erwärmen lassen. Nach dem Dispensieren die unbenutzten Blättchen wieder im Kühlschrank aufbewahren.
- Die ältesten Blättchen zuerst verwenden.
- Verfallene Blättchen entsorgen. Auch Kartuschen entsorgen, aus denen im Lauf der vergangenen Woche häufig Blättchen entnommen wurden. Über Nacht im Labor offen stehen gelassene Blättchen entsorgen oder überprüfen, ob sie noch für ihren Zweck geeignet sind.
- Falls die Blättchen mit dem empfohlenen Kontrollorganismus falsche Hemmzonen ergeben, muss das gesamte Verfahren überprüft werden. Wenn die Hemmzonen falsch sind, kann dies auf die Blättchen, die Inokulation, die Vorbereitung oder Tiefe des Mediums oder anderen Faktoren zurückzuführen sein.

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

PROBEN

Diese Blättchen dürfen nicht direkt an klinischen Proben oder an Proben mit einer gemischten mikrobiologischen Flora verwendet werden. Die Mikroorganismen für die Präsumtivbestimmung sind zunächst in Form von separaten Kolonien zu isolieren, indem die Proben auf entsprechenden Kultivierungsplatten ausgestrichen werden.

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial: Diese Packung enthält Blättchen zur Differenzierung von gramnegativen anaeroben Bazillen laut Angabe.

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial: Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien, Qualitätskontrollorganismen und Laborgeräte, die für dieses Verfahren gebraucht werden.

Testverfahren:

- Zubereitung des Inokulums mit Test- und Kontrollkulturen
 - Vor der Inokulation Kappe eines Röhrchens mit Inokulum-Bouillon (z. B. Schädler-Bouillon mit Vitamin K₁ oder einem anderen geeigneten Nährmedium) lockern und das Röhrchen in kochendem Wasser erwärmen, um Sauerstoff auszutreiben. Anschließend Röhrchen wieder gut verschließen und auf Raumtemperatur abkühlen lassen. Alternativ kann die Inokulum-Bouillon über Nacht in einem Anaerobiertopf reduziert werden.
 - Gramfärbung durchführen. Nur Reinkulturen verwenden.
 - Drei oder vier ähnliche Kolonien auswählen und Inokulum-Bouillon inokulieren.
 - Unter anaeroben Bedingungen bei 35 °C 18 – 24 h lang inkubieren oder bis eine starke Trübung eingetreten ist. Trübung auf einen McFarland-Trübungsstandard von 1 einstellen.
- Inokulation
 - Platten mit anaerobem CDC-Blutagar und Brucella-Blutagar mit Häm in und Vitamin K₁ auf Raumtemperatur erwärmen lassen. Die Agaroberfläche sollte glatt und feucht sein.
 - Innerhalb von 15 min nach Anpassung der Trübung einen sterilen Wattetupfer in das korrekt verdünnte Inokulum tauchen und gegen die obere Innenwand des Röhrchens gepresst mehrmals hin und her drehen, um die überschüssige Flüssigkeit auszudrücken.
 - Die gesamte Agaroberfläche dreimal inokulieren und dabei zwischen jedem Ausstreichen die Platte jeweils um 60° drehen, um eine gleichmäßige Inokulation zu erzielen.
 - Deckel der Platte wieder aufsetzen und 3 – 5 min bei Raumtemperatur stehen lassen, damit die Feuchtigkeit aus dem Inokulum aufgenommen werden kann.
 - Blättchen mit einer sterilen Pinzette oder einem Einzelblättchenspender in gleichmäßigen Abständen auf die inokulierte Agaroberfläche auflegen und mit einer sterilen Nadel oder Pinzette leicht andrücken, um einen vollständigen Kontakt mit der Nährbodenoberfläche zu gewährleisten.
 - Sofort bei 35 °C unter anaeroben Bedingungen inkubieren.
 - Platte nach 48 h untersuchen. Hemmzonen auf einen Millimeter genau ausmessen und Ergebnis notieren: unter 10 mm gilt als resistent, ab 10 mm gilt als empfindlich.

Qualitätssicherung durch den Anwender: Bei jeder Durchführung eines Empfindlichkeitstests sollten gleichzeitig Kontrolltests mit bekannten Kulturen durchgeführt werden. Folgende Teststämme werden empfohlen:

Antibiotikum und Code

Organismus	Kanamycin K	Rifampin RA	Penicillin P-2	Vancomycin Va-5	Colistin CL-10
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC™ 25285	R	E	R	R	R
<i>Fusobacterium mortiferum</i> ATCC 9817	E	R	E	R	E

E = Empfindlich (Zonen ≥ 10 mm) R = Resistent (Zonen < 10 mm)

Es sind die geltenden gesetzlichen und behördlichen und in den Akkreditierungsbedingungen festgelegten Vorschriften zur Qualitätskontrolle sowie die laborinternen Standardvorgaben zur Qualitätskontrolle zu beachten. Es wird empfohlen, die korrekten Qualitätskontrollverfahren den geltenden CLSI-Richtlinien und CLIA-Bestimmungen zu entnehmen.

ERGNISSE

Reaktionsmuster mit der nachstehenden Tabelle vergleichen.

Hemmung des Wachstums von *Bacteroides*- und *Fusobacterium*-Spezies durch die verschiedenen Antibiotikablttchen[†]

Organism	Antibiotikum und Code				
	Kanamycin K	Rifampin RA	Penicillin P-2	Vancomycin Va-5	Colistin CL-10
<i>B. fragilis</i> -Gruppe*	R	E	R	R	R
<i>P. melaninogenica</i>	RE	E	E	RE	ER
<i>P. buccalis</i> und <i>P. veroralis</i>	R	E	E	RE	ER
<i>B. ureolyticus</i>	E	E	E	R	E
<i>F. mortiferum</i>	E	R	ER	R	E
<i>F. varium</i>	E	R	ER	R	E
<i>F. necrophorum</i>	E	E	E	R	E
<i>F. nucleatum</i>	E	E	E	R	E

E = Empfindlich (Zonen \geq 10 mm). ER = Mehrheit der Stmme empfindlich.

R = Resistent (Zonen < 10 mm). RE = Mehrheit der Stmme resistent.

[†] Die Daten beziehen sich auf anaeroben CDC-Blutagar und auf Brucella-Blutagar mit Hmin und Vitamin K₁.

* Die *B. fragilis*-Gruppe umfasste *B. fragilis*, *B. distansis*, *B. ovatus*, *B. thetaiotaomicron*, *B. vulgatus* und *B. uniformis*.

VERFAHRENSBESCHRANKUNGEN

Ein vollstndiges Schema der morphologischen und biochemischen Eigenschaften, die in Zusammenhang mit der beobachteten Wachstumshemmung bei Anwesenheit von Antibiotika eine Prsumtivbestimmung erlauben, ist der einschlgigen Fachliteratur zu entnehmen.¹⁻⁴ Eine positive Prsumtivbestimmung sollte durch eine definitive Bestimmung besttigt werden. Weitere Informationen sind der einschlgigen Fachliteratur zu entnehmen.²⁻⁹

LEISTUNGSMERKMALE

Vor der Freigabe werden alle Chargen von **BBL Taxo**-Testblttchen fr die Identifizierung von gramnegativen anaeroben Bazillen getestet, um die spezifischen Produkteigenschaften zu prfen. Die Proben wurden auf die Wirksamkeit der im Set enthaltenen Antibiotika getestet.

Zusätzlich werden Platten mit anaerobem Schafsblutagar 5% nach CDC und Brucella-Blutagar mit Hmin und Vitamin K₁ mit Hilfe von Tupfern inokuliert, und zwar mit Kulturen von *Bacteroides fragilis* (ATCC 25285) und *Fusobacterium mortiferum* (ATCC 9817). Proben werden auf die inokulierten Platten aufgebracht und bei 35 \pm 2 °C unter anaeroben Bedingungen inkubiert. Nach 48 h Inkubation werden die Platten auf Hemmzonen um die Blttchen untersucht. *B. fragilis* ist resistent (< 10 mm) gegenber Kanamycin, Penicillin, Vancomycin und Colistin und empfindlich (\geq 10 mm) gegenber Rifampin. *F. mortiferum* ist resistent (< 10 mm) gegenber Rifampin und Vancomycin und empfindlich (\geq 10 mm) gegenber Kanamycin, Penicillin und Colistin.

LIEFERBARE PRODUKTE

Best.- Nr. Beschreibung

231651 **BD BBL Taxo** Anaerobe Differentiation Discs Set, 50 Tests

1 Set enthlt je eine Kartusche (50 Blttchen) mit den folgenden Antibiotika:

BBL Taxo Kanamycin, 1 mg

BBL Taxo Rifampin, 15 mg

Sensi-Disc Penicillin, 2 I.E.

Sensi-Disc Vancomycin, 5 mg

Sensi-Disc Colistin, 10 mg

231562 **BD BBL Taxo** Kanamycin, 1-mg-Blttchen, Einzelkartusche mit 50 Blttchen

LITERATUR: S. "References" im englischen Text.

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

BD Dischi BBL Taxo per l'identificazione presuntiva di bacilli anaerobi gram-negativi

Italiano

USO PREVISTO

L'uso di questi dischi è raccomandato per l'identificazione presuntiva di bacilli anaerobi gram-negativi in base alle differenze di sensibilità agli agenti antibiotici. *Questa procedura non è da usare a fini terapeutici.*

SOMMARIO E SPIEGAZIONE

Sutter e Finegold hanno documentato il valore dei dischi di antibiotici di speciale potenza nella differenziazione di *Bacteroides* e *Fusobacterium* spp. in base a pattern di inibizione degli antibiotici.¹ I pattern, unitamente ad osservazioni microscopiche e sulle colonie e a un numero limitato di test biochimici, hanno consentito una rapida identificazione presuntiva dei bacilli anaerobi. I Centers for Disease Control (CDC) hanno adottato un protocollo di differenziazione simile.² Sutter et al. hanno raccomandato l'uso di dischi di kanamicina 1 mg, vancomicina 5 μ g e colistina 10 μ g con colture pure strisciate su Brucella Blood Agar con emina e vitamina K₁, con un breakpoint di dimensioni di zona di 10 mm ai fini della refertazione di sensibilità o resistenza.³ Il protocollo CDC utilizza dischi di penicillina 2 unità, rifampicina 15 μ g e kanamicina 1 mg su CDC Anaerobe Blood Agar, un terreno arricchito supplementato con emina e vitamina K₁, con criteri di dimensioni di zona più ampi.² Il protocollo di test **BBL** utilizza questi cinque dischi su uno dei terreni e il breakpoint di dimensioni di zona di 10 mm.

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Questi dischi sono usati per la differenziazione di bacilli anaerobi gram-negativi in base ai test in vitro di colture pure contro antibiotici selezionati usando la metodica di diffusione in agar. La crescita dei microrganismi può essere inibita dalla diffusione dell'antibiotico al di fuori del disco, con conseguente formazione di una zona di inibizione intorno al disco. La differenziazione si basa sulla presenza di zone di inibizione uguali o maggiori di 10 mm (sensibili) o minori di 10 mm (resistenti).

DESCRIZIONE DEL PRODOTTO

Questi dischi da 6 mm circa, in carta assorbente di alta qualità, sono impregnati di quantità accuratamente determinate di antibiotici. Sono forniti in cartucce da 50 dischi ciascuna. L'ultimo disco di ogni cartuccia è contrassegnato con una "X" e contiene l'antibiotico indicato dal codice. Le cartucce sono da usare in dispenser **BBL** a disco singolo.

Avvertenze e precauzioni

Per uso diagnostico *in vitro*.

I dischi **Taxo** Kanamycin 1 mg e Taxo Rifampin 15 μ g non sono da usare in test di sensibilità a fini terapeutici.

Durante tutte le procedure, adottare tecniche asettiche e seguire le precauzioni standard contro i rischi microbiologici.

Dopo l'uso, le piastre per il test e gli altri materiali contaminati devono essere sterilizzati in autoclave.

Modalità di conservazione

- Al ricevimento, conservare i contenitori dei dischi a una temperatura compresa tra -20 e +8 °C. Se il frigorifero del laboratorio viene aperto e chiuso di frequente e **non** riesce a mantenere una temperatura idonea, conservarli soltanto una quantità di dischi sufficiente per una settimana.
- Prima dell'apertura, attendere che i contenitori raggiungano la temperatura ambiente. Una volta completata l'applicazione dei dischi, rimettere in frigorifero quelli non utilizzati.
- Usare prima i dischi più vecchi.
- Gettare i dischi scaduti. Gettare anche le cartucce i cui dischi siano stati rimossi frequentemente nell'arco di una settimana. Gettare i dischi non conservati in frigorifero durante la notte in laboratorio oppure testarne le performance.
- Se i dischi sviluppano zone di inibizione non corrette con i microrganismi di controllo raccomandati, verificare l'intera procedura; le errate dimensioni della zona possono essere attribuite al disco, all'inoculo, alla preparazione o allo spessore del terreno o ad altri fattori.

La data di scadenza vale solo per i dischi conservati in contenitori integri come prescritto.

CAMPIONI

Non usare questi dischi direttamente con campioni clinici o altri terreni contenenti flora mista. I microrganismi destinati all'identificazione presuntiva devono essere prima isolati come colonie separate eseguendo uno striscio del campione su terreni di coltura appropriati.

PROCEDURA

Materiale fornito - questa confezione contiene dischi per la differenziazione di bacilli anaerobi gram-negativi, come da etichetta.

Materiali necessari ma non forniti - Terreni di coltura accessori, reagenti, microrganismi per controllo di qualità e apparecchiature di laboratorio necessarie per questa procedura.

Procedura del test -

- Preparazione dell'inoculo con colture per il test e il controllo
 - Prima dell'inoculo, svitare parzialmente il tappo di una provetta di brodo per inoculo, es. brodo Schaedler con vitamina K₁ o un altro terreno adatto e riscaldare a bagnomaria in ebollizione per eliminare l'ossigeno, riavvitare il tappo e lasciare raffreddare a temperatura ambiente, oppure ridurre il brodo di inoculo nella notte in un recipiente per anaerobiosi.
 - Eseguire una colorazione di Gram. Utilizzare soltanto colture pure.
 - Selezionare tre o quattro colonie simili e inoculare il brodo per inoculo.
 - Incubare in anaerobiosi a 35 °C per 18 – 24 h o finché non si osserva torbidità; correggere la torbidità in modo da renderla comparabile allo standard McFarland n. 1 solfato di bario.
- Inoculo
 - Pre-riscaldare a temperatura ambiente le piastre di CDC Anaerobe Blood Agar o Brucella Blood Agar con emina e vitamina K₁. Le superfici agar devono essere omogenee e umide.
 - Entro 15 min dalla correzione della torbidità dell'inoculo, immergere un tampone sterile nell'inoculo correttamente diluito ed eliminare il liquido in eccesso facendo ruotare il tampone e premendolo varie volte sulla parte superiore della parete interna della provetta.
 - Inoculare tre volte l'intera superficie agar, girando la piastra di 60° dopo ogni striscio per ottenere un inoculo uniforme.
 - Riporre il coperchio della piastra e lasciare per 3 - 5 min a temperatura ambiente per consentire l'assorbimento dell'umidità dall'inoculo.
 - Applicare i dischi - uniformemente distanziati - sulla superficie agar inocolata, usando pinze sterili o un dispenser a disco singolo e premere su di essi con un ago o pinze sterili in modo da porli completamente a contatto con la superficie del terreno.
 - Incubare immediatamente a 35 °C in anaerobiosi.
 - Esaminare le piastre dopo 48 h. Misurare e registrare ogni zona di inibizione, arrotondando al millimetro; refertare il risultato come resistente se la zona è minore di 10 mm e come sensibile se la zona è uguale o maggiore di 10 mm.

Controllo di qualità a cura dell'utente - Includere test di controllo che impiegano colture conosciute, ogni volta che si esegue un test di sensibilità. Si raccomandano i microrganismi sottoelencati.

Microorganismo	Antibiotico e codice				
	Kanamicina K	Rifampicina RA	Penicillina P-2	Vancomicina Va-5	Colistina CL-10
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC™ 25285	R	S	R	R	R
<i>Fusobacterium mortiferum</i> ATCC 9817	S	R	S	R	S

S = Sensibile (zone ≥ 10 mm) R = Resistente (zone < 10 mm)

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

RISULTATI

Comparare i pattern di reattività a quelli riportati nella tabella.

Inibizione di *Bacteroides* e *Fusobacterium* spp. con i dischi di antibiotici†

Microorganismo	Antibiotico e codice				
	Kanamicina K	Rifampicina RA	Penicillina P-2	Penicillina Va-5	Colistina CL-10
Gruppo <i>B. fragilis</i> *	R	S	R	R	R
<i>P. melaninogenica</i>	R ^s	S	S	R ^s	S ^r
<i>P. buccalis</i> e <i>P. veroralis</i>	R	S	S	R ^s	S ^r
<i>B. ureolyticus</i>	S	S	S	R	S
<i>F. mortiferum</i>	S	R	S ^r	R	S
<i>F. varium</i>	S	R	S ^r	R	S
<i>F. necrophorum</i>	S	S	S	R	S
<i>F. nucleatum</i>	S	S	S	R	S

S = Sensibile (zone ≥ 10 mm); S^r = maggioranza di ceppi sensibili.

R = Resistente (zone < 10 mm); R^s = maggioranza di ceppi resistenti.

† Dati ottenuti su CDC Anaerobe Blood Agar e Brucella Blood Agar con emina e vitamina K₁.

* Il gruppo *B. fragilis* include *B. fragilis*, *B. distasonis*, *B. ovatus*, *B. thetaiotaomicron*, *B. vulgatus* e *B. uniformis*.

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Per gli schemi completi delle caratteristiche morfologiche e biochimiche che, uniti a questi pattern di inibizione degli antibiotici, consentono l'identificazione presuntiva, consultare la bibliografia.¹⁻⁴ Dopo l'identificazione presuntiva, eseguire procedure di identificazione definitiva allo scopo di definire la validità dell'identificazione presuntiva. Per maggiori informazioni, consultare la documentazione appropriata.²⁻⁸

PERFORMANCE

Prima della spedizione, vengono testati tutti i lotti di **BBL Taxo** Anaerobe Differentiation Discs per verificarne le caratteristiche specifiche. Vengono analizzati campioni per definire la potenza di ogni antibiotico contenuto nel kit.

Inoltre, piastre di CDC Anaerobe 5% Sheep Blood Agar e Brucella Blood Agar con emina e vitamina K₁ vengono inoculate mediante tampone con colture di *Bacteroides fragilis* (ATCC 25285) e *Fusobacterium mortiferum* (ATCC 9817). I campioni vengono posti sulle piastre inoculate e incubati a 35 ± 2 °C in anaerobiosi. Dopo 48 h di incubazione, le piastre vengono esaminate per verificare le zone di inibizione intorno a ogni disco. *B. fragilis* è resistente (< 10 mm) a kanamicina, penicillina, vancomicina e colistina e sensibile (≥ 10 mm) a rifampicina. *F. mortiferum* è resistente (< 10 mm) a rifampicina e vancomicina e sensibile (≥ 10 mm) a kanamicina, penicillina e colistina.

DISPONIBILITÀ

Cat. No. Descrizione

- 231651 **BD BBL Taxo** Anaerobe Differentiation Discs Set, 50 test
Componenti del set - una cartuccia di 50 dischi di ciascuno degli antibiotici seguenti:
BBL Taxo Kanamycin, 1 mg
BBL Taxo Rifampin, 15 µg
Sensi-Disc Penicillin, 2 units
Sensi-Disc Vancomycin, 5 µg
Sensi-Disc Colistin, 10 µg

231562 **BD BBL Taxo** Kanamycin, dischi da 1 mg, cartuccia singola da 50 dischi

BIBLIOGRAFIA: Vedere "References" nel testo inglese.

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

BD Discos BBL Taxo para la identificación presuntiva de bacilos anaerobios gram negativos

Español

USO PREVISTO

Se recomienda el uso de estos discos para la identificación presuntiva de bacilos anaerobios gram negativos según las diferencias de sensibilidad a los agentes antimicrobianos. *Este procedimiento no ha de utilizarse con fines terapéuticos.*

RESUMEN Y EXPLICACION

Sutter y Finegold reseñaron acerca del valor de los discos antibióticos de potencia especial para la diferenciación de *Bacteroides* y *Fusobacterium* spp. según los patrones de inhibición antibiótica¹. Dichos patrones, junto con las observaciones microscópicas y de colonias, además de un número limitado de pruebas bioquímicas, permitieron la rápida identificación presuntiva de los bacilos anaerobios. Un protocolo de diferenciación similar fue adoptado por los Centers for Disease Control (CDC)².

Sutter et al. recomendaron el uso de discos de 1 mg de kanamicina, 5 µg de vancomicina y 10 µg de colistina con cultivos puros extendidos en agar sangre *Brucella* con hemina y vitamina K₁, con un límite de tamaño de zona de 10 mm para informar sensibilidad o resistencia³. El protocolo de los CDC utiliza discos de 2 unidades de penicilina, 15 µg de rifampina

y 1 mg de kanamicina en agar sangre para anaerobios del CDC, un medio enriquecido suplementado con hemina y vitamina K₁, con criterios de tamaño de zona más grande². El protocolo de pruebas **BBL** utiliza estos cinco discos en cualquiera de los medios y el límite de tamaño de zona de 10 mm.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

Estos discos se utilizan para la diferenciación de bacilos anaerobios gram negativos según el análisis *in vitro* de cultivos puros en comparación con agentes antimicrobianos seleccionados mediante el método de difusión en agar. El crecimiento de los microorganismos puede ser inhibido por el agente antimicrobiano que se difunde hacia fuera del disco, lo que produce una zona de inhibición alrededor del disco. La diferenciación se basa en la presencia de zonas de inhibición de mayor o igual a 10 mm (sensible) o menor de 10 mm (resistente).

DESCRIPCION DEL PRODUCTO

Estos discos de 6 mm están fabricados con papel absorbente de alta calidad impregnados con cantidades exactamente determinadas de agentes antimicrobianos. Se suministran en cartuchos que contienen 50 discos cada uno. El último disco de cada cartucho está marcado con una "X" y contiene el fármaco según su código. Los cartuchos deben utilizarse en dispensadores de un solo disco **BBL**.

Advertencias y precauciones:

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Los discos **Taxo** de 1 mg de kanamicina y **Taxo** de 15 µg de rifampina no se deben utilizar en análisis de sensibilidad con fines terapéuticos.

Emplear una técnica aséptica y seguir las precauciones habituales contra riesgos microbiológicos durante todos los procedimientos. Después de su uso, las placas de la prueba y otros materiales contaminados deben esterilizarse en autoclave.

Instrucciones para el almacenamiento:

- En cuanto se reciba, guardar los recipientes a una temperatura entre -20 y +8 °C. Si el refrigerador del laboratorio se abre y cierra con frecuencia y **no** se mantiene una temperatura adecuada, guardar sólo la cantidad que se va a utilizar en una semana.
- Permitir que los envases lleguen a temperatura ambiente antes de abrirlos. Devolver al refrigerador los discos que no hayan sido utilizados cuando se haya terminado la aplicación de los mismos.
- Utilizar primero los discos cuya fecha de caducidad sea más próxima.
- Desechar los discos que ya han caducado. También se deben desechar los cartuchos de los que se han sacado discos con frecuencia durante una semana. Desechar los discos que se hayan dejado en el laboratorio fuera del refrigerador toda la noche; o bien, se debe probar su rendimiento.
- Si los discos forman zonas incorrectas con los organismos de control recomendados, todo el procedimiento debe ser evaluado; la zona defectuosa puede deberse al disco, la inoculación, la preparación o profundidad del medio o a otros factores.

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

MUESTRAS

Estos discos no deben utilizarse directamente con muestras clínicas ni con otras fuentes que contengan flora mixta. El organismo que ha de identificarse presuntamente debe aislarse primero como colonias independientes extendiendo la muestra en placas con medios de cultivo adecuados.

PROCEDIMIENTO

Material suministrado: En este paquete se incluyen discos para la diferenciación de los bacilos anaerobios gram negativos, según se indica en las etiquetas.

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

Procedimiento del análisis:

- Preparación del inóculo con cultivos de control y de prueba
 - Antes de la inoculación, aflojar la tapa de un tubo de caldo de inóculo, por ejemplo, caldo Schaedler con vitamina K₁ o medio alternativo adecuado, y calentar en baño María en ebullición para eliminar el oxígeno, volver a ajustar la tapa y enfriar a temperatura ambiente, o reducir el caldo de inóculo de un día para el otro en un frasco anaerobio.
 - Realizar una tinción de Gram. Utilizar únicamente cultivos puros.
 - Seleccionar de tres a cuatro colonias similares e inocular el caldo de inóculo.
 - Incubar en atmósfera anaerobia a 35 °C durante 18 – 24 h o hasta que se observe una turbidez densa; ajustar la turbidez para que sea comparable a un patrón de sulfato de bario N° 1 de McFarland.
- Inoculación
 - Precalentar a temperatura ambiente las placas de agar sangre para anaerobios del CDC o agar sangre *Brucella* con hemina y vitamina K₁. Las superficies de agar deben ser lisas y húmedas.
 - Dentro de los 15 min de ajustar la turbidez del inóculo, sumergir una torunda estéril en el inóculo correctamente diluido y hacerla rodar firmemente varias veces contra la pared interna superior del tubo para exprimir el líquido en exceso.
 - Inocular toda la superficie del agar de la placa tres veces, girando la placa 60 grados cada vez para obtener una inoculación uniforme.
 - Reemplazar la tapa de la placa y mantener entre 3 y 5 min a temperatura ambiente para permitir la absorción de la humedad desde el inóculo.
 - Aplicar los discos equidistantes a la superficie de agar inoculada con pinzas estériles o dispensador de un solo disco y bloquear con aguja o pinza estéril para asegurar un contacto completo con la superficie del medio.
 - Incubar de inmediato a 35 °C en condiciones anaerobias.
 - Examinar las placas después de 48 h. Medir y registrar cada zona de inhibición al milímetro más cercano: menos de 10 mm como resistente; igual o mayor que 10 mm como sensible.

Control de calidad del usuario: Se deben incluir pruebas de control con cultivos conocidos cada vez que se realice una prueba de sensibilidad. Se recomiendan los siguientes organismos:

Agente antimicrobiano y código					
Organismo	Kanamicina K	Rifampina RA	Penicilina P-2	Vancomicina Va-5	Colistina CL-10
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC™ 25285	R	S	R	R	R
<i>Fusobacterium mortiferum</i> ATCC 9817	S	R	S	R	S

S = Sensible (zonas ≥ 10 mm) R = Resistente (zonas < 10 mm)

El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda consultar las instrucciones de CLSI y normativas de CLIA correspondientes para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

RESULTADOS

Comparar los patrones de reacciones con los que aparecen en la tabla.

Inhibición de las especies *Bacteroides* y *Fusobacterium* con discos antibióticos†

Agente antimicrobiano y código					
Organismo	Kanamicina K	Rifampina RA	Penicilina P-2	Vancomicina Va-5	Colistina CL-10
Grupo <i>B. fragilis</i> *	R	S	R	R	R
<i>P. melaninogenica</i>	R ^S	S	S	R ^S	S ^r
<i>P. buccalis</i> y <i>P. veroralis</i>	R	S	S	R ^S	S ^r
<i>B. ureolyticus</i>	S	S	S	R	S
<i>F. mortiferum</i>	S	R	S ^r	R	S
<i>F. varium</i>	S	R	S ^r	R	S
<i>F. necrophorum</i>	S	S	S	R	S
<i>F. nucleatum</i>	S	S	S	R	S

S = Sensible (zonas ≥ 10 mm); S^r = mayoría de cepas sensibles.

R = Resistente (zonas < 10 mm); R^S = mayoría de cepas resistentes.

† Datos obtenidos en agar sangre para anaerobios del CDC o agar sangre *Brucella* con hemina y vitamina K₁.

* El grupo *B. fragilis* incluye *B. fragilis*, *B. distasonis*, *B. ovatus*, *B. thetaiotaomicron*, *B. vulgatus* y *B. uniformis*.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Debe consultarse las referencias para el esquema completo de características morfológicas y bioquímicas que, junto con estos patrones de inhibición de antibióticos, permiten una identificación presuntiva¹⁻⁴. Posteriormente, deben realizarse procedimientos de identificación definitiva para establecer la validez de la identificación presuntiva. Para obtener información adicional, deben consultarse las referencias correspondientes²⁻⁸.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Antes de su lanzamiento al mercado, todos los **BBL Taxo Anaerobe Differentiation Discs** se analizan para verificar las características específicas del producto. Se analizan muestras para determinar la potencia de cada uno de los agentes antimicrobianos del equipo.

Además, se inoculan placas de agar sangre de camero al 5% para anaerobios del CDC y agar sangre *Brucella* con hemina y vitamina K₁ mediante torunda con cultivos de *Bacteroides fragilis* (ATCC 25285) y *Fusobacterium mortiferum* (ATCC 9817). Las muestras se colocan en las placas inoculadas y se incuban a 35 ± 2 °C en condiciones anaerobias. Después de 48 h de incubación, se efectúa la lectura de las placas para determinar las zonas de inhibición alrededor de cada disco. *B. fragilis* es resistente (<10 mm) a la kanamicina, penicilina, vancomicina y colistina, y es sensible (≥ 10 mm) a la rifampina. *F. mortiferum* es resistente (< 10 mm) a la rifampina y vancomicina y sensible (≥ 10 mm) a la kanamicina, penicilina y colistina.

DISPONIBILIDAD

Nº de cat. Descripción

231651	BD BBL Taxo Anaerobe Differentiation Discs Set, 50 pruebas Componentes del equipo: un cartucho de 50 discos de cada uno de los siguientes agentes antimicrobianos: BBL Taxo Kanamycin, 1 mg BBL Taxo Rifampin, 15 µg Sensi-Disc Penicillin, 2 unidades Sensi-Disc Vancomycin, 5 µg Sensi-Disc Colistin, 10 µg
231562	BD BBL Taxo Kanamycin, discos de 1 mg, cartucho único de 50 discos

REFERENCIAS: Ver "References" en el texto en inglés.

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



Manufacturer / Производител / Výrobce / Fabrikant / Hersteller / Κατασκευαστής / Fabricante / Toetja / Fabricant / Proizvođač / Gyártó / Fabricante / Агаруучу / Gamintojas / Ražotājs / Tilvirker / Producent / Producător / Производитель / Výrobca / Proizvođač / Tilverkare / Üretici / Виробник



Use by / Исползвайте до / Spotfejulte do / Brug før / Verwendbar bis / Χρήση έως / Usar antes de / Kasutada enne / Date de péremption / Uputrijebiti do / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Дійн пайдалануға / Naudokite iki / Izljetot ftdz / Houdbaar tot / Brukes for / Stosować do / Prazo de validade / A se utiliza până la / Исползовать до / Použite do / Uputrebiti do / Använd före / Son kullanna tarihi / Використати до fine
YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month)
ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = края на месеца)
RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)
AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = slutning af måned)
JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende)
EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα)
AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fin del mes)
AAAA-KK-PP / AAAA-KK (KK = kuu lõpp)
AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois)
GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj mjeseca)
ÉÉÉÉ-HH-NN / ÉÉÉÉ-HH (HH = hónap utolsó napja)
AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese)
ЖОЖОЖ-АА-КК / ЖОЖОЖ-АА (АА = айдын 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 måneden)
RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)
AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês)
AAAA-LL-ZZ / AAAA-LL (LL = sfârşitul 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-DD / PPPP-MM (MM = кінець місяця)



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



Authorized Representative in the European Community / Оторизирани представител в Европейската общност / Autorizovaný zástupce pro Evropském společenství / Autoriseret representant i De Europæiske Fællesskaber / 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 / Autorizirani predstavnik u Eurpskoj uniji / Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségben / Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea / Европа қауымдастығындағы уәкілетті екіл / Igalotias atstovas Europos Bendrijoje / Pilnvarotais pārstāvis Eiropas Kopienā / Bevoegde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap / Autoriseret representant i EU / Autorizovane predstavicielstvo we Wspólnocie Europejskiej / Representante autorizado na Comunidade Europeia / Reprezentant autorizat pentru Comunitatea Europeană / Уполномоченный представитель в Европейском сообществе / Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve / Autorizovano predstavnstvo u Eurpskoj 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 meditsiniaparatuur / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medicinska pomagala za In Vitro Dijagnostiku / In vitro diagnostizikai orvosi eszköz / Dispositivo medicale per diagnostica in vitro / Жасанды жағдайда жүргізілетін 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 pomůcka na diagnostiku in vitro / Medicinski uređaji za in vitro dijagnostiku / Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik / In Vitro Diyagnostik Tibbi Cihaz / Медицинский пристрій для діагностики in vitro



Temperature limitation / Температурни ограничения / Teplotní omezení / Temperaturbegrensning / Temperaturbegrenzung / Περιορισμοί θερμοκρασίας / Limitation de temperatura / Temperaturri piirang / Limites de température / Dozvoljena temperatura / Hőmérsékleti határ / Limiti di temperatura / Температурны шектеу / Laikymo temperatūra / Temperatura ierobežojumi / Temperaturilimit / Temperaturbegrensning / Ograniczenie temperatury / Limites de temperatura / Limite de temperatură / Ограничение температуры / Ograničenje 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 (aiidiens) / Lot number / Batch-kode (parti) / Kod partii (serial) / Código do lote / Cod de serie (Lot) / Код партии (not) / Kód série (šarža) / Kod serije / Partinummer (Lot) / Parti Kodu (Lot) / Код партії



Contains sufficient for <n> tests / Содержит достаточно для <n> теста / Dostatečné množství pro <n> testů / Ineholder tilstrækkeligt til <n> tests / Ausreichend für <n> Tests / Περιέχει επαρκή ποσότητα για <n> εξετάσεις / Contenido suficiente para <n> pruebas / Küllaldane <n> testide jaoks / Contenu suffisant pour <n> tests / Sadržaj za <n> testova / <n> teszthez elegendő / Contenido suficiente per <n> test / <n> тестте үшүн жеткілікті / Pakankamas kiekis atlikti <n> testų / Satur pietiekami <n> pārbaudēm / Inhoud voldoende voor "n" testen / Inholder tilstrækkelig til <n> tester / Zawiera ilość wystarczającą do <n> testów / Conteúdo suficiente para <n> testes / Conținut suficient pentru <n> teste / Достаточо для <n> тестов(а) / Obsah vystačí na <n> testov / Sadržaj dovoljan za <n> testova / Innehåller tillräckligt för <n> analyser / <n> test ičin yeterli malzeme içerir / Вистачить для аналізів: <n>



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 / Lugeeda 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 / Skaitl lietošanas pamācību / Raadpleeg de gebruiksaanwijzing / Se i bruksanvisningen / Zobacz instrukcja użytkowania / Consultar as instruções de utilização / Consultati instrucțiunile de utilizare / См. руководство по эксплуатации / Pozri Pokyny na používanie / Pogledajte uputstvo za upotrebu / Se bruksanvisningen / Kullanım Talimatları'na başvurun / Див. інструкції з використання



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



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

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

BD, BD Logo, and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD.