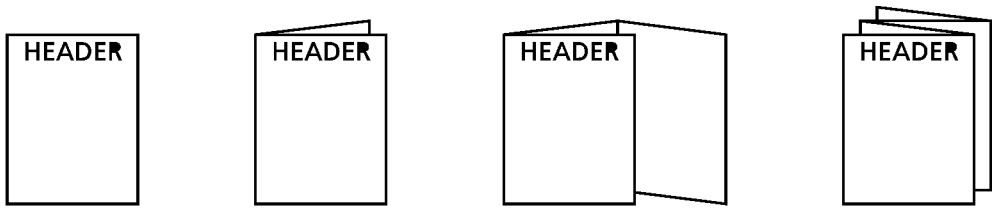
Revisions

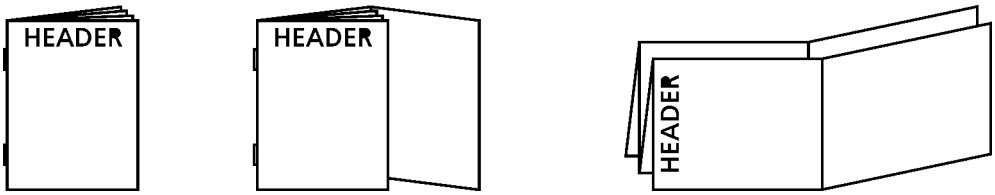
Rev from	Rev to	ECO #
0599	**0503**	**1417-03**

Notes:

1. BD Cat. Number 226306
2. Blank (Sheet) Size : Length: 11″ Width: 28.875″
   Number of Pages: 14 Number of Sheets: 1
   Page Size: Length 11″ Width 4 1/8″ Final Folded Size: 5 1/2″ x 4 1/8″
3. Style (see illustrations below): # 4



#1 #2 #3 #4



#5 #6 #7

4. See Specification Control Number VS-226306 for Material Information
5. Ink Colors: Printed two sides ☒ Yes ☐ No
   No. of Colors: 1 PMS# Standard Black
6. Graphics are approved by Becton, Dickinson and Company. Supplier has the responsibility for using the most current approved revision level.

Label Design / Date	COMPANY CONFIDENTAL. THIS DOCUMENT IS THE PROPERTY OF BECTON, DICKINSON AND COMPANY AND IS NOT TO BE USED OUTSIDE THE COMPANY WITHOUT WRITTEN PERMISSION	BD Becton, Dickinson and Company 7 Loveton Circle Sparks, MD 21152 USA	
Proofer / Date			
Checked By / Date	Category and Description Package Insert, BBL Prompt Inoculation System	Sheet: 1 of 15	A
Part Number: 8808061		Scale: 1:1	

BD BBL™ Prompt™ Inoculation System

For use with the Disc Diffusion Susceptibility Test

CE

8808061
2003/05

English:	**pages**	**1 – 3**		**Italiano:**	**pagine**	**8 – 10**
Français :	**pages**	**3 – 5**		**Español:**	**páginas**	**10 – 12**
Deutsch:	**Seiten**	**5 – 7**				

See symbol glossary at end of insert. / Viz popis symbolů na konci příbalového letáku. / **Se symbolglossaret i slutningen af indlægssedlen.** / **Zie lijst met symbolen aan het einde van de bijsluiter.** / Vaadake sümbolite seletust infolehe lõpus. / **Katso pakkausselosteen lopussa olevaa kuvamerkkien sanastoa.** / **Voir le glossaire des symboles à la fin de la notice.** / **Siehe Symbol-Erklärungen am Ende der Packungsbeilage.** / **Δείτε το γλωσσάριο των συμβόλων στο τέλος του ένθετου.** / A jelmagyarázat a használati utasítás végén található. / **Vedere il glossario dei simboli alla fine del foglio illustrativo.** / Žr. informacinio lapelio pabaigoje pateikiamą simbolių glosarijų. / **Se i symbolforklaringen på slutten av produktvedlegget.** / Zobacz objaśnienie symboli na końcu ulotki. / **Consulte o glossário de símbolos no fim do folheto informativo.** / Pozri slovník symbolov na konci letáka. / **Consulte el glosario de símbolos al final del prospecto.** / **Se symbolförteckningen vid slutet av bipacksedeln.**

INTENDED USE

The **BBL™ Prompt™** Inoculation System is used to prepare standardized suspensions of bacteria for the Bauer-Kirby disc diffusion antimicrobial susceptibility test procedure. The system may be used for rapidly growing bacteria such as *Enterobacteriaceae, Staphylococcus* spp., *Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter* spp., enterococci and some nonenterococcal streptococci. It also may be used for *Haemophilus influenzae*.

SUMMARY AND EXPLANATION

The Bauer Kirby procedure is a standardized method for the determination of antimicrobial susceptibility based on the agar gel disc diffusion principle.[1-3] This method is published as a consensus standard by the National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) and is periodically reviewed and updated.[4]

The inoculum concentration has been shown to be an important factor in obtaining valid results with the Bauer Kirby procedure.[2-5] The original Bauer-Kirby procedure employed inoculum prepared from log phase cultures. This requires incubation in broth for several hours to achieve the desired inoculum density, equivalent to the 0.5 McFarland turbidity standard, which produces approximately 1 x 10^8 CFU/mL.[3-5] Several studies have subsequently shown that direct standardization of the inoculum, i.e., without incubation, is an acceptable alternative.[5-7] The direct adjustment of inoculum preparation is the preferred method for fastidious organisms that may grow slowly in broth. The M2-T4 edition of the NCCLS disc diffusion standard contained a revised procedure for *Haemophilus influenzae*, in which a new medium, Haemophilus Test Medium (HTM), was employed.[8] This procedure recommended matching the inoculum density to the 0.5 McFarland standard using a photometric device.

The **BBL Prompt** Inoculation System is a device that allows direct standardization of inoculum without adjustment of turbidity or preincubation.[9-11] This method is considered acceptable for routine testing purposes.[4] It has been shown that the **Prompt** system is also satisfactory for preparing inoculum for *H. influenzae* in the Bauer-Kirby procedure.[12]

PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

The **Prompt** Inoculation System wand is touched to several bacterial colonies on a primary isolation plate and is placed in the tube of saline provided with the system. The bacteria are suspended in the saline by agitation with a vortex mixer. When the **Prompt** Inoculation System is used in this manner, an inoculum containing approximately 1.5 x 10^8 colony forming units per mL (CFU/mL) can be expected for most bacteria. This is equivalent to the inoculum density that is achieved by matching the turbidity to that of a 0.5 McFarland standard.[4] Agreement of susceptibility results is greater than 95% when compared to the standardized method.[11] The **Prompt** inoculum should be used within 6 h after preparation for most bacteria. For *H. influenzae*, the inoculum should be used within 3 h. The **Prompt** Inoculation System facilitates inoculation by eliminating: 1) the incubation period and 2) the need for manual adjustment of inoculum density.

PRODUCT DESCRIPTION

The **Prompt** Inoculation System consists of an inoculation wand and a tube of saline. The wand is a polypropylene rod attached to a stopper. At the tip of the wand are cross-hatched grooves designed to hold a specific number of bacteria. The cell suspending solution, consisting of 1 mL of sterile saline, is provided in a plastic tube with a snap off cap.

Warnings and Precautions:

For *in vitro* Diagnostic Use.

1. Colonies must be selected from FRESH culture plates (≤ 24 h).
2. DO NOT FLAME the plastic inoculation wand. It will melt.
3. To avoid contamination, always keep fingers above the ridge on the inoculation wand.
4. Keep wands covered when not in use.
5. Do not use if colonies are very small (< 0.5 mm in diameter).

Observe aseptic techniques and established precautions against microbiological hazards throughout all procedures. After inoculation, the **Prompt** inoculation tube and wand and other contaminated materials should be sterilized by autoclaving.

Storage Instructions: Prompt units should be stored at room temperature, (2–27°C).

Product Deterioration: Prompt inoculation tubes should not be used if the tube or cap is cracked or if the saline is cloudy.

SPECIMEN COLLECTION AND TRANSPORT

Specimens received in the laboratory should be treated in the usual manner for the preparation of a primary culture plate.

PROCEDURE

Material Provided: 62 **Prompt** inoculation wands and 60 **Prompt** inoculation tubes.

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

Test Procedure: The **Prompt** Inoculation System may be used for the preparation of inocula in disc diffusion procedures.

A. Preparation of Bacterial Suspension

1. Remove the required number of **Prompt** inoculation tubes from the box and place in a test tube rack.
2. Remove an inoculation wand from the box.
3. Holding the wand tip *perpendicular* to the agar surface, touch five isolated colonies greater than 1 mm in diameter. (As a reference, the tip of the wand is 2 mm in diameter.) Do not penetrate the agar. Do not scrape or drag the tip across the colonies.

   NOTE: If the colonies are small (0.5 mm to 1 mm in diameter), touch ten instead of five. For very small, pinpoint colonies, continue incubation of the primary plate until they reach a diameter of approximately 0.5 mm to 1 mm. If the colony diameter is not likely to reach 0.5 mm (e.g., some streptococci), an alternative method for inoculum preparation should be used.
4. While holding the inoculation wand with one hand, remove a **Prompt** inoculation tube from the rack.
5. Bend the cap of the tube sideways until it snaps off.
6. Place the inoculation wand into the tube and press down with a twisting motion to assure a tight seal.
7. Vortex the tube vigorously for ten s to release the bacteria from the wand tip. If the organism is not released from the wand, let the solution sit for 5 min and vortex again.
8. Repeat steps 2-7 for all tubes.
9. The bacterial suspension should be used within 6 h of preparation. If not used immediately after preparation, shake vigorously to resuspend the bacteria just prior to use. For *H. influenzae*, use within 3 h of preparation.

B. Inoculation of Mueller Hinton Agar or HTM Agar Plate

1. Remove the inoculation wand from the tube. Discard in an appropriate container to be sterilized.
2. Dip a sterile cotton swab into the bacterial suspension. To remove excess liquid, rotate the swab several times with a firm pressure on the inside wall of the tube above the fluid level.
3. Streak the plate using conventional techniques and proceed with the susceptibility test.[4]

User Quality Control: The **Prompt** Inoculation System is used as part of a multicomponent diagnostic test. When employed for the NCCLS inoculum preparation procedure, it should produce the results given in the NCCLS standard for the control cultures.[4]

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 NCCLS guidance and CLIA regulations for appropriate Quality Control practices.

RESULTS

When used according to directions, the **Prompt** Inoculation System will provide the proper inoculum for the Bauer-Kirby test for most clinical isolates. The susceptibility test results obtained with the **Prompt** Inoculation System show an overall 97.0% agreement with the standard Bauer-Kirby procedure.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

1. The **Prompt** Inoculation System should not be used when the colony size is less than 0.5 mm in diameter. Examples of organisms that may not meet the 0.5 mm size requirement are *Streptococcus* spp. other than enterococci, *S. bovis* and *S. agalactiae* (group B).

   Picking colonies which are too small will result in underinoculation and may cause a resistant organism to appear to be susceptible. An alternate method of inoculum preparation should be used for colonies less than 0.5 mm in diameter.
2. Some mucoid organisms such as "stringy" *Klebsiella* or *Pseudomonas* may not adhere to the wand when attempting to pick up the colony. This will be visually apparent. An alternate method of inoculum preparation should be used for such organisms.

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Three hundred (300) susceptibility results obtained from inocula prepared by the **Prompt** system technique were compared to the results obtained from inocula prepared according to NCCLS standard procedure.[11] The relative frequencies of genera tested were *Escherichia* (16.7%), *Klebsiella* (10%), *Proteus* (14.7%), *Providencia* (8%), *Morganella* (4%), *Enterobacter* (8.7%), *Serratia* (4.7%), *Pseudomonas* (6.7%), *Staphylococcus* (12.7%), enterococci (8.7%) and other group D and group B *Streptococcus* (5.3%). The interpretive agreement between disc diffusion susceptibility tests inoculated according to the NCCLS standard procedure and the **Prompt** Inoculation System was 97.0% for 3,578 drug bacteria combinations. When held for 6 h, significant differences were noted in zone diameters; however, overall interpreted agreement was 97.9% for the 1187 drug bacteria combinations tested. The overall mean for 742 gram-

negative and gram-positive bacterial counts was 1.85 x 10^8 CFU with a 95% confidence interval of 4.66 x 10^7 to 7.36 x 10^8 CFU.[11] In another study with 14 strains of *H. influenzae*, the mean inoculum density of freshly prepared suspensions was 1.5 ± 0.1 x 10^8 CFU/mL. After 3 h at room temperature, the density was 0.7 ± 0.2 x 10^8 CFU/mL.[13] In this study, the overall agreement when compared with a photometric device was 98.4%, and with the visual McFarland standard method, 97.9.[13]

AVAILABILITY

Cat. No.	Description
226306	**BBL™ Prompt™** Inoculation System, 60 Tubes and 62 Inoculation Wands.

REFERENCES

1. Bauer, A.W., W.M.M. Kirby, J.C. Sherris, and M. Turck. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am. J. Clin. Pathol. *45*:493 496.
2. Ericsson, H.M., and J.C. Sherris. 1971. Antibiotic sensitivity testing. Report of an international collaborative study. Acta. Pathol. Microbiol. Scand. Sec. B, Suppl. *217*:1-90.
3. Thornsberry, C., T.L. Gavan, E.H. Gerlach. 1977. Cumitech 6, New developments in antimicrobial agent susceptibility testing. Coordinating ed., J.C. Sherris. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2003. Approved standard: M2-A8. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, 8th ed. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa.
5. Barry, A.L., and C. Thornsberry. 1985. Susceptibility tests: diffusion test procedures, p. 978-987. *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.
6. Barry, A.L., L.J. Joyce, A.P. Adams, and E.J. Benner. 1973. Rapid determination of antimicrobial susceptibility for urgent clinical situations. Am. J. Clin. Pathol. *59*:693 699.
7. D'Amato, R.F. and L. Hochstein. 1982. Evaluation of a rapid inoculum preparation method for agar disk diffusion susceptibility testing. J. Clin. Microbiol. *15*:282 285.
8. Jorgensen, J.H., J.S. Redding, L.A. Maher, and A.W. Howell. 1987. Improved medium for antimicrobial susceptibility testing of *Haemophilus influenzae*. J. Clin. Microbiol. *25*:2105-2113.
9. Baker, C.N., C. Thornsberry, and R.W. Hawkinson. 1983. Inoculum standardization in antimicrobial susceptibility testing: evaluation of overnight agar cultures and the rapid inoculum standardization system. J. Clin. Microbiol. *17*:450 457.
10. Wicks, J.H., R.L. Nelson, and G.E. Krejcarek. 1983. Rapid inoculum standardization system: a novel device for standardization of inocula in antimicrobial susceptibility testing. J. Clin. Microbiol. *17*:1114-1119.
11. Lund, M.E., and R.W. Hawkinson. 1983. Evaluation of the Prompt inoculation system for preparation of standardized bacterial inocula. J. Clin. Microbiol. *18*:84-91.
12. Marsik, F., G. Evans, J. Fowler, and L. Thompson. 1989. Comparison of the BBL™ Prompt™ system, Abbott A-JUST™ and visual method for the preparation of *Haemophilus influenzae* inoculum for the Bauer-Kirby procedure. Abstr. Annu. Meet. Am. Soc. Microbiol. C-67, p. 404.
13. Data on file at BD Diagnostics.

BD BBL Prompt Inoculation System

Pour l'antibiogramme par diffusion sur disque

Français

APPLICATION

Le **BBL Prompt** Inoculation System (système d'ensemencement **BBL Prompt**) sert à préparer des suspensions bactériennes standardisées pour le test de sensibilité par diffusion sur disque Bauer-Kirby. Il peut également servir à la croissance rapide de bactéries telles que *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., les entérocoques, certains streptocoques non entérocoques, et éventuellement *Haemophilus influenzae*.

RESUME ET EXPLICATION

La procédure Bauer-Kirby est une méthode standardisée pour la détermination de la sensibilité aux antimicrobiens sur la base du principe de diffusion sur disque en gel de gélose.[1-3] Cette méthode est considérée comme la norme consensuelle par le National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) et fait l'objet de révisions et mises à jour régulières.[4]

On a montré que la concentration de l'inoculum était un facteur important pour l'obtention de résultats valides avec la procédure Bauer-Kirby.[2-5] La procédure Bauer-Kirby d'origine utilisait un inoculum préparé à partir de cultures en phase exponentielle de croissance. Cette méthode nécessite plusieurs heures d'incubation en bouillon afin d'atteindre une densité d'inoculum équivalente à un standard de turbidité McFarland 0,5, qui produit environ 1 x 10^8 UFC/mL.[3-5] Par la suite, plusieurs études ont montré qu'une standardisation directe de l'inoculum (sans incubation) est une alternative acceptable.[5-7] L'ajustement direct de la préparation de l'inoculum est la méthode préférable pour les organismes exigeants dont la croissance en bouillon est lente. L'édition M2-T4 de la norme NCCLS de diffusion sur disque comprend une révision de la procédure pour *Haemophilus influenzae*, dans laquelle on a employé un nouveau milieu, Haemophilus Test Medium (HTM).[8] Il est recommandé d'ajuster

la densité de l'inoculum à un standard McFarland 0,5 à l'aide d'un dispositif photométrique.

Le **BBL Prompt** Inoculation System est un dispositif qui permet une standardisation directe de l'inoculum sans ajustement de la turbidité ou préincubation.[9-11] Cette méthode est considérée comme étant acceptable pour les tests de routine.[4] Des auteurs ont montré que le système **Prompt** permet également de préparer de façon satisfaisante un inoculum pour *H. influenzae* dans le cadre de la procédure Bauer-Kirby.[12]

PRINCIPES DE LA METHODE

La pipette du **Prompt** Inoculation System est mise en contact avec plusieurs colonies bactériennes sur une boîte de Pétri d'isolement primaire et placée dans le tube de solution saline fourni avec le système. Les bactéries sont mises en suspension dans la solution saline par agitation au vortex. Lorsque le **Prompt** Inoculation System est utilisé de cette manière, on peut obtenir un inoculum comprenant environ 1,5 x 10^8 unités formant colonies par mL (UFC/mL) pour la plupart des bactéries, ce équivaut à la densité d'inoculum obtenue pour une turbidité correspondant à une standard de McFarland 0,5.[4] La concordance des résultats de sensibilité est supérieure à 95 % par rapport à la méthode standardisée.[11] Pour la plupart des bactéries, l'inoculum **Prompt** doit être utilisé dans les 6 h suivant la préparation. Pour *H. influenzae*, l'inoculum doit être utilisé dans les 3 h. Le **Prompt** Inoculation System facilite l'ensemencement en éliminant : 1) la période d'ensemencement, et 2) la nécessité d'un ajustement manuel de la densité d'inoculum.

DESCRIPTION

Le **Prompt** Inoculation System comprend une pipette d'ensemencement et un tube de solution saline. La pipette est un bâtonnet en polypropylène terminé par un bouchon. L'extrémité de la pipette comprend des sillons quadrillés conçus pour contenir un nombre spécifique de bactéries. La solution de cellules en suspension est une solution saline stérile d'1 mL, fournie en tube plastique avec bouchon à pression.

Avertissements et précautions :

Réservé au diagnostic *in vitro*.

1. Les colonies doivent être sélectionnées sur des boîtes des cultures FRAICHES (≤ 24 h).
2. NE PAS passer la pipette d'ensemencement en plastique A LA FLAMME : elle fondrait.
3. Pour éviter toute contamination, ne pas placer les doigts sous l'arête de la pipette d'ensemencement.
4. Conserver les pipettes couvertes après utilisation.
5. Ne pas utiliser si les colonies sont minuscules (< 0,5 mm de diamètre).

Respecter les techniques d'asepsie et prendre les précautions en vigueur contre les dangers microbiologiques. Après l'ensemencement, les tubes et la pipette d'ensemencement **Prompt** et tout autre matériel contaminé doivent être stérilisés à l'autoclave.

Instructions pour la conservation : Conserver les unités **Prompt** à température ambiante (2-27 °C).

Détérioration du produit : Ne pas utiliser les tubes d'ensemencement **Prompt** si le tube ou le bouchon est fêlé ou si la solution saline est trouble.

PRELEVEMENT ET TRANSPORT DES ECHANTILLONS

Pour la préparation d'une boîte de culture primaire, traiter les échantillons reçus au laboratoire selon la procédure habituelle.

METHODE

Matériaux fournis : 62 pipettes d'ensemencement **Prompt** et 60 tubes d'ensemencement **Prompt**.

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

Mode opératoire du test : Le **Prompt** Inoculation System peut servir à la préparation d'inoculums dans les procédures de diffusion sur disque.

A. Préparation de la suspension bactérienne
   1. Sortir du carton le nombre requis de tubes d'ensemencement **Prompt** et les placer sur un portoir pour tubes à essai.
   2. Sortir une pipette d'ensemencement du carton.
   3. Tenir l'extrémité de la pipette *perpendiculairement* à la surface de la gélose et toucher cinq colonies isolées de plus d'1 mm de diamètre. (Pour référence, l'extrémité de la pipette fait 2 mm de diamètre.) Ne pas pénétrer la gélose. Ne pas gratter ou traîner l'extrémité de la pipette sur les colonies.

REMARQUE : Si les colonies sont de petite taille (de 0,5 à 1 mm de diamètre), en toucher dix et non cinq. Pour les colonies de taille très petite à minuscule, poursuivre l'incubation de la boîte d'isolement primaire jusqu'à obtenir un diamètre d'environ 0,5 à 1 mm. S'il n'est pas vraisemblable que le diamètre des colonies atteigne 0,5 mm (dans le cas notamment de certains streptocoques), utiliser une autre méthode de préparation de l'inoculum.

   4. En tenant la pipette d'ensemencement d'une main, retirer le tube d'ensemencement **Prompt** du portoir.
   5. Tordre le bouchon du tube jusqu'à ce qu'il se dégage.
   6. Placer la pipette d'ensemencement dans le tube et appuyer en tournant pour garantir l'étanchéité.
   7. Vortexer vigoureusement le tube pendant dix secondes pour détacher les bactéries de l'extrémité de la pipette. Si le microorganisme n'est pas détaché de la pipette, laisser reposer la solution pendant 5 min et vortexer de nouveau.
   8. Répéter les étapes 2 à 7 pour tous les tubes.
   9. Utiliser la suspension bactérienne dans les 6 h qui suivent la préparation. Si elle n'est pas utilisée immédiatement après la préparation, secouer vigoureusement pour remettre les bactéries en suspension juste avant l'utilisation. Pour *H. influenzae*, utiliser dans les 3 h suivant la préparation.

B. Ensemencement d'une gélose Mueller Hinton ou d'une gélose en boîte de Pétri HTM
   1. Sortir la pipette d'ensemencement du tube. La déposer dans un récipient approprié à la stérilisation.
   2. Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne. Tourner l'écouvillon plusieurs fois en le pressant fermement contre la paroi intérieure du tube au-dessus du niveau de la solution afin d'éliminer le liquide en excès de l'écouvillon.
   3. Strier la boîte conformément aux techniques conventionnelles et poursuivre l'antibiogramme.[4]

Contrôle de qualité par l'utilisateur : Le **Prompt** Inoculation System s'utilise dans le cadre d'un test diagnostic à composants multiples. Lorsqu'il est utilisé pour la préparation d'un inoculum NCCLS, il doit fournir les résultats donnés dans la norme NCCLS pour les cultures de contrôle.[4]

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 NCCLS et la réglementation CLIA correspondantes pour plus d'informations sur les modalités de contrôle de qualité.

RESULTATS

Utilisé conformément aux présentes instructions, le **Prompt** Inoculation System fournit un inoculum approprié pour le test Bauer-Kirby pour la plupart des isolats cliniques. Les résultats de l'antibiogramme obtenus avec le **Prompt** Inoculation System sont à 97,0 % conformes à la procédure Bauer-Kirby standard.

LIMITES DE LA PROCEDURE

1. Le **Prompt** Inoculation System ne doit pas être utilisé avec des colonies de moins de 0,5 mm de diamètre. *Streptococcus* spp. autre que les entérocoques, *S. bovis* et *S. agalactiae* (groupe B) comptent parmi les microorganismes qui ne satisfont pas à cette exigence de taille.

   Des colonies de taille trop petite conduiront à un sous-ensemencement et à un résultat sensible des microorganismes résistants. Utiliser une autre méthode de préparation de l'inoculum pour les colonies de moins de 0,5 mm de diamètre.
2. Il est possible que certains microorganismes mucoïdes tels que *Klebsiella* et *Pseudomonas* douteux n'adhèrent pas à la pipette lors du prélèvement des colonies. Cela est visible à l'œil nu. Utiliser une autre méthode de préparation de l'inoculum pour de tels microorganismes.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES SPECIFIQUES

Trois cents (300) résultats de sensibilité obtenus à partir d'inoculums préparés avec le système **Prompt** ont été comparés aux résultats obtenus à partir d'inoculums préparés selon la procédure NCCLS standard.[11] Les fréquences relatives des genres testés étaient les suivantes : *Escherichia* (16,7 %), *Klebsiella* (10 %), *Proteus* (14,7 %), *Providencia* (8 %), *Morganella* (4 %), *Enterobacter* (8,7 %), *Serratia* (4,7 %), *Pseudomonas* (6,7 %), *Staphylococcus* (12,7 %), entérocoques (8,7 %) et autres *Streptococcus* des groupes B et D (5,3 %). La concordance d'interprétation entre les antibiogrammes par diffusion sur disque ensemencés conformément à la procédure NCCLS standard et le **Prompt** Inoculation System était de 97,0 % pour 3 578 combinaisons antibiotiques-bactéries. Après 6 h, on notait des différences importantes au niveau des diamètres des zones ; toutefois, la concordance d'interprétation globale était de 97,9 % pour les 1 187 combinaisons antibiotiques-bactéries testées. La moyenne générale des 742 numérations bactériennes à Gram négatif et Gram positif était de 1,85 x 10^8 UFC, avec un intervalle de confiance de 95 % compris entre 4,66 x 10^7 et 7,36 x 10^8 UFC.[11] Lors d'un autre test portant sur 14 souches de *H. influenzae*, la densité d'inoculum moyenne de suspensions récentes était de 1,5 ± 0,1 x 10^8 UFC/mL. Après 3 h à température ambiante, la densité était de 0,7 ± 0,2 x 10^8 UFC/mL.[13] Dans cette étude, la concordance générale par rapport au dispositif photométrique était de 98,4 %, et de 97,9 % avec la méthode visuelle standard McFarland.[13]

CONDITIONNEMENT

No réf.	Description
226306	**BBL Prompt** Inoculation System, 60 tubes et 62 pipettes d'ensemencement.

REFERENCES : voir la rubrique "References" du texte anglais

BD BBL Prompt Inoculation System

Zur Verwendung mit dem Blättchendiffusionstest für die Empfindlichkeitsprüfung

Deutsch

VERWENDUNGSZWECK

Das **BBL Prompt** Inoculation System (**BBL Prompt**-Inokulationssystem) dient zur Herstellung standardisierter Bakteriensuspensionen für die Antibiotika-Empfindlichkeitsprüfung anhand der Blättchendiffusionsmethode nach Bauer-Kirby. Das System kann zur Anzüchtung schnell wachsender Bakterien wie *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., Enterokokken und einigen nicht zu den Enterokokken zählenden Streptokokken verwendet werden. Es ist ebenfalls für *Haemophilus influenzae* geeignet.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Das Bauer-Kirby-Verfahren ist eine standardisierte Methode zur Bestimmung der Antibiotika-Empfindlichkeit nach dem Prinzip der Agargel-Blättchendiffusion.[1-3] Diese Methode wird vom National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) als einvernehmlicher Standard veröffentlicht und regelmäßig aktualisiert.[4]

Die Inokulumkonzentration ist ein wesentlicher Faktor für die Erzielung gültiger Ergebnisse mit der Bauer-Kirby-Methode.[2-5] Bei der ursprünglichen Bauer-Kirby-Methode wurde Inokulum aus der exponentiellen Wachstumsphase der Kulturen verwendet. Dabei müssen Kulturen mehrere Stunden in Nährbouillon inkubiert werden, um die erforderliche Inokulumdichte zu erreichen, die dem McFarland-Trübungsstandard 0,5 entspricht und etwa 1 x 10^8 KBE/mL beträgt.[3-5] Mehrere Studien haben gezeigt, dass eine direkte Standardisierung des Inokulums, d. h. ohne Inkubation, eine geeignete Alternative ist.[5-7] Die direkte Einstellung des Inokulums ist die bevorzugte Methode für anspruchsvolle Organismen, die in Nährbouillon ggf. nur langsam wachsen. Der NCCLS-Standard M2-T4 für Blättchendiffusionstests enthält ein überarbeitetes Verfahren für *Haemophilus influenzae*, bei dem das neue Haemophilus-Testmedium (HTM) eingesetzt wird.[8] Dieses Verfahren empfiehlt die Einstellung der Inokulumdichte auf den McFarland-Trübungsstandard 0,5 mit Hilfe eines Photometers.

Das **BBL Prompt**-Inokulationssystem ermöglicht eine direkte Standardisierung des Inokulums ohne Einstellung der Trübung und ohne Vorinkubation.[9-11] Diese Methode ist für Routinetests anerkannt.[4] Das **Prompt**-System erwies sich außerdem zur Herstellung von *H. influenzae*-Inokulum für die Bauer-Kirby-Methode als geeignet.[12]

VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Der Impfstab des **Prompt**-Inokulationssystems wird mit mehreren Bakterienkolonien auf einer Erstisolierungsplatte in Berührung gebracht und in das mitgelieferte Röhrchen mit Kochsalzlösung überführt. Die Bakterien werden durch Schütteln auf einem Vortexmischer in der Kochsalzlösung suspendiert. Wenn das **Prompt**-Inokulationssystem auf diese Weise verwendet wird, kann bei den meisten Bakterien ein Inokulum mit etwa 1,5 x 10^8 koloniebildenden Einheiten pro mL (KBE/mL) erwartet werden. Dies entspricht einer Inokulumdichte, die durch Einstellung der Trübung auf den McFarland-Standard 0,5 erzielt wird.[4] Die Übereinstimmung der Empfindlichkeitsergebnisse beim Vergleich mit der standardisierten Methode beträgt über 95 %.[11] Das **Prompt**-Inokulum sollte bei den meisten Bakterien innerhalb von 6 h nach der Herstellung verwendet werden. Bei *H. influenzae* sollte das Inokulum innerhalb von 3 h verwendet werden. Das **Prompt**-Inokulationssystem erleichtert die Inokulation durch Elimination: 1) der Inkubationszeit und 2) der Notwendigkeit einer manuellen Einstellung der Inokulumdichte.

BESCHREIBUNG

Das **Prompt**-Inokulationssystem besteht aus einem Impfstab und einem Röhrchen mit Kochsalzlösung. Der Impfstab besteht aus einem Polypropylenstab, der an einem Stopfen befestigt ist. An der Spitze des Impfstabs befinden sich kreuzschraffierte Kerben zur Aufnahme einer bestimmten Anzahl von Bakterien. Die Lösung für die Zellsuspendierung (1 mL sterile Kochsalzlösung) befindet sich in einem Kunststoffröhrchen mit Schnappdeckel.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen:

In-vitro-Diagnostikum.

1. Die Kolonien müssen FRISCHEN Kulturplatten (≤ 24 h) entnommen werden.
2. Den Kunststoff-Impfstab NICHT ABFLAMMEN. Er wird dabei schmelzen.
3. Um eine Kontamination zu vermeiden, den Impfstab nicht unterhalb der Rille berühren.
4. Impfstäbe bei Nichtgebrauch bedeckt halten.
5. Nicht bei sehr kleinen Kolonien (< 0,5 mm Durchmesser) verwenden.

Der Umgang mit mikrobiologischem Material sollte bei allen Verfahren unter Einhaltung aseptischer Arbeitsweise und der allgemein üblichen Vorsichtsmaßnahmen erfolgen. Das **Prompt**-Inokulationsröhrchen, den Impfstab und sonstige kontaminierte Materialien nach der Inokulation im Autoklaven sterilisieren.

Aufbewahrung: Prompt-Systeme sollten bei Raumtemperatur (2-27 °C) aufbewahrt werden.

Haltbarkeit des Produkts: Prompt-Inokulationsröhrchen sollten nicht verwendet werden, wenn das Röhrchen oder der Deckel Sprünge aufweist oder wenn die Kochsalzlösung trüb ist.

PROBENENTNAHME UND -TRANSPORT

Im Labor eingegangene Proben sollten auf die für die Vorbereitung von Primärkulturplatten übliche Weise behandelt werden.

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial: 62 **Prompt**-Impfstäbe und 60 **Prompt**-Inokulationsröhrchen.

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial: Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien, Qualitätskontrollorganismen und die für dieses Verfahren benötigten Laborutensilien.

Testverfahren: Das **Prompt**-Inokulationssystem kann zur Herstellung von Inokula für Blättchendiffusionstests verwendet werden.

A. Herstellung der Bakteriensuspension:
   1. Die erforderliche Anzahl von **Prompt**-Inokulationsröhrchen aus der Packung nehmen und in einen Reagenzglasständer stellen.
   2. Einen Impfstab aus der Packung nehmen.
   3. Die Spitze des Impfstabs *senkrecht* zur Agaroberfläche halten und fünf isolierte Kolonien mit einem Durchmesser von über 1 mm damit berühren. (Als Referenz: die Spitze des Impfstabs hat einen Durchmesser von 2 mm.) Den Agar nicht einstechen. Die Spitze nicht über die Kolonien ziehen.

   HINWEIS: Bei kleinen Kolonien (0,5 bis 1 mm Durchmesser) zehn anstelle von fünf berühren. Bei sehr kleinen Kolonien die Inkubation der Primärkulturplatte fortsetzen, bis sie einen Durchmesser von etwa 0,5 bis 1 mm erreicht haben. Wenn es unwahrscheinlich ist, dass der

Koloniedurchmesser 0,5 mm erreichen wird (z. B. bei einigen Streptokokken), sollte eine alternative Methode zur Herstellung des Inokulums angewendet werden.

4. Während der Impfstab mit einer Hand gehalten wird, ein **Prompt**-Inokulationsröhrchen aus dem Ständer nehmen.
5. Die Kappe des Röhrchens auf die Seite drücken, bis sie sich ablöst.
6. Den Impfstab in das Röhrchen geben und mit einer Drehung nach unten drücken, um eine feste Abdichtung zu gewährleisten.
7. Das Röhrchen 10 s kräftig auf dem Vortexmischer schütteln, um die Bakterien von der Stabspitze zu lösen. Wenn sich die Organismen nicht von der Spitze lösen, die Lösung 5 min stehen lassen und erneut auf dem Vortexmischer schütteln.
8. Die Schritte 2-7 für alle Röhrchen wiederholen.
9. Die Bakteriensuspension sollte innerhalb von 6 h nach der Herstellung verwendet werden. Falls sie nicht sofort nach der Herstellung verwendet wird, unmittelbar vor der Verwendung kräftig schütteln, um die Bakterien erneut zu suspendieren. Bei *H. influenzae* sollte die Suspension innerhalb von 3 h nach der Herstellung verwendet werden.

B. Inokulation von Mueller-Hinton-Agar oder HTM-Agar

1. Den Impfstab aus dem Röhrchen nehmen. In einem geeigneten Behälter zur Sterilisation aufbewahren.
2. Einen sterilen Wattetupfer in die Bakteriensuspension tauchen. Den Tupfer oberhalb der Flüssigkeit mehrmals kräftig an der Röhrchenwand abrollen, um überschüssige Flüssigkeit zu entfernen.
3. Die Agarplatte unter Anwendung einer Standardmethode ausstreichen und die Empfindlichkeitsprüfung durchführen.[4]

Qualitätskontrolle durch den Anwender: Das **Prompt**-Inokulationssystem wird als Teil eines mehrteiligen diagnostischen Tests verwendet. Wenn es für die Inokulumherstellung nach der NCCLS-Methode eingesetzt wird, sollte es die im NCCLS-Standard für Kontrollkulturen angegebenen Ergebnisse liefern.[4]

Die Qualitätskontrollen müssen unter Einhaltung der örtlich, landesweit und/oder bundesweit geltenden Bestimmungen oder der Auflagen der Akkreditierungsorganisationen sowie der Standard-Qualitätskontrollverfahren Ihres Labors erfolgen. Es wird empfohlen, die korrekten Qualitätskontrollverfahren den geltenden NCCLS-Richtlinien und CLIA-Bestimmungen zu entnehmen.

ERGEBNISSE

Bei anleitungsgemäßer Anwendung liefert das **Prompt**-Inokulationssystem bei den meisten klinischen Isolaten das korrekte Inokulum für den Bauer-Kirby-Test. Die Ergebnisse von Empfindlichkeitsprüfungen, die mit dem **Prompt**-Inokulationssystem erzielt wurden, zeigen eine Gesamtübereinstimmung von 97,0 % mit der Standardmethode nach Bauer-Kirby.

VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

1. Das **Prompt**-Inokulationssystem sollte nicht verwendet werden, wenn die Koloniedurchmesser weniger als 0,5 mm betragen. Organismen, die den Mindestdurchmesser von 0,5 mm ggf. nicht erreichen, sind z. B. *Streptococcus* spp. außer Enterokokken, *S. bovis* und *S. agalactiae* (Gruppe B).

   Die Verwendung zu kleiner Kolonien verursacht eine unzureichende Inokulation und kann dazu führen, dass ein resistenter Organismus als empfindlich erscheint. Für Kolonien mit einem Durchmesser von weniger als 0,5 mm sollte eine alternative Methode zur Herstellung des Inokulums angewendet werden.
2. Einige mukoide Organismen wie "fadenförmige" *Klebsiella* oder *Pseudomonas* bleiben ggf. nicht am Impfstab haften. Dies ist deutlich zu sehen. Für solche Organismen sollte eine alternative Methode zur Herstellung des Inokulums angewendet werden.

SPEZIFISCHE LEISTUNGSMERKMALE

Dreihundert (300) Ergebnisse von Empfindlichkeitsprüfungen mit Inokula, die unter Anwendung des **Prompt**-Systems hergestellt wurden, wurden mit den Ergebnissen von Inokula, die anhand der NCCLS-Standardmethode hergestellt wurden, verglichen.[11] Die Häufigkeitsverteilung der getesteten Genera war: *Escherichia* (16,7 %), *Klebsiella* (10 %), *Proteus* (14,7 %), *Providencia* (8 %), *Morganella* (4 %), *Enterobacter* (8,7 %), *Serratia* (4,7 %), *Pseudomonas* (6,7 %), *Staphylococcus* (12,7 %), Enterokokken (8,7 %) und andere *Streptococcus* der Gruppe D und B (5,3 %). Die Interpretationsübereinstimmung zwischen Blättchendiffusionstests, die anhand der NCCLS-Standardmethode inokuliert wurden, und dem **Prompt**-Inokulationssystem betrug 97,0 % bei 3 578 Antibiotika/Bakterien-Kombinationen. Nach 6 h waren signifikante Unterschiede bei den Hemmhofdurchmessern zu verzeichnen; die Gesamtübereinstimmung bei den 1187 getesteten Antibiotika/Bakterien-Kombinationen betrug jedoch 97,9 %. Die gesamtdurchschnittliche Bakterienzahl bei 742 gramnegativen und grampositiven Organismen betrug 1,85 x 10^8 KBE bei einem Vertrauensintervall von 95 % zwischen 4,66 x 10^7 und 7,36 x 10^8 KBE.[11] In einer anderen Studie mit 14 Stämmen von *H. influenzae*, betrug die durchschnittliche Inokulumdichte frisch hergestellter Suspensionen 1,5 ± 0,1 x 10^8 KBE/mL. Nach 3 h bei Raumtemperatur betrug die Keimdichte 0,7 ± 0,2 x 10^8 KBE/mL.[13] In dieser Studie betrug die Gesamtübereinstimmung mit einem Photometer 98,4 % und mit der visuellen McFarland-Standardmethode 97,9 %.[13]

LIEFERBARE PRODUKTE

Best.- Nr.	Beschreibung
226306	**BBL Prompt** Inoculation System, 60 Röhrchen und 62 Impfstäbe.

LITERATUR: S. "References" im englischen Text.

BD BBL Prompt Inoculation System

Da usare per il test di sensibilità mediante disco-diffusione

Italiano

USO PREVISTO

Il **BBL Prompt** Inoculation System è usato nella preparazione di sospensioni standardizzate di batteri per la procedura Bauer-Kirby del test di sensibilità agli antibiotici mediante disco-diffusione. Il sistema può essere utilizzato per batteri a crescita rapida come *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., enterococchi e alcuni streptococchi non enterococchi. Può essere usato anche per *Haemophilus influenzae*.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE

La procedura Bauer-Kirby è un metodo standardizzato per la determinazione della sensibilità agli antibiotici basato sul principio di disco-diffusione su agar gel.[1-3] Questo metodo è pubblicato come consensus standard dal National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) ed è periodicamente oggetto di revisioni e aggiornamenti.[4]

La concentrazione dell'inoculo è stata riscontrata importante ai fini dell'ottenimento di risultati validi con la procedura Bauer-Kirby.[2-5] In origine, la procedura Bauer-Kirby utilizzava un inoculo preparato da colture in "log phase" Questo inoculo richiede l'incubazione in brodo per varie ore per raggiungere la densità desiderata, equivalente allo standard di torbidità McFarland 0,5, che produce circa 1 x 10^8 UFC/mL.[3-5] Vari studi hanno successivamente dimostrato che la standardizzazione diretta dell'inoculo, cioè senza incubazione, è un'alternativa accettabile.[5-7] L'aggiustamento diretto dell'inoculo preparato è il metodo di scelta per gli organismi esigenti a crescita lenta in brodo. L'edizione M2-T4 del metodo standard NCCLS di disco-diffusione ha incluso una revisione della procedura per *Haemophilus influenzae*, con l'impiego di un nuovo terreno, Haemophilus Test Medium (HTM).[8] Questa procedura raccomanda l'uso di un dispositivo fotometrico per regolare la densità dell'inoculo allo standard McFarland 0,5.

BBL Prompt Inoculation System è un sistema che permette la standardizzazione diretta dell'inoculo senza aggiustamento di torbidità o pre-incubazione.[9-11] Questo metodo viene considerato accettabile per i test di routine.[4] Il sistema **Prompt** si è dimostrato adeguato anche per preparare l'inoculo di *H. influenzae* con la procedura Bauer-Kirby.[12]

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Con il bastoncino del **Prompt** Inoculation System si toccano alcune colonie di batteri su una piastra di isolamento primario e si introduce quindi il bastoncino nella provetta di soluzione fisiologica fornita con il sistema. I batteri vengono sospesi nella soluzione fisiologica mediante agitazione con vortex. Quando il **Prompt** Inoculation System viene usato in questo modo, è possibile ottenere un inoculo contenente circa 1,5 x 10^8 unità formanti colonie per mL (UFC/mL) per la maggior parte dei batteri. La densità di questo inoculo è equivalente a quella ottenuta mediante la regolazione di torbidità allo standard McFarland 0,5.[4] La concordanza dei risultati di sensibilità supera il 95% rispetto al metodo standardizzato.[11] Per la maggior parte dei batteri, l'inoculo deve essere usato entro 6 h dalla preparazione. Nel caso di *H. influenzae*, l'inoculo deve essere usato entro 3 h. Il **Prompt** Inoculation System facilita la procedura di inoculo in quanto elimina: 1) il periodo di incubazione e 2) la necessità di aggiustamento manuale della densità dell'inoculo.

DESCRIZIONE DEL PRODOTTO

Il **Prompt** Inoculation System contiene un bastoncino per l'inoculo e una provetta di soluzione fisiologica. Il bastoncino è in polipropilene ed è collegato ad un tappo. La punta del bastoncino presenta delle scanalature incrociate che servono a trattenere un numero specifico di batteri. La soluzione di sospensione batterica, pari a 1 mL di soluzione fisiologica sterile, è fornita in una provetta di plastica con coperchio a scatto.

Avvertenze e precauzioni

Per uso diagnostico *in vitro*.

1. Le colonie devono essere selezionate da piastre di coltura FRESCA (≤ 24 h).
2. NON BRUCIARE il bastoncino di plastica per inoculo, in quanto si può fondere.
3. Per evitare la contaminazione, tenere le dita sempre al di sopra del bordo del bastoncino per inoculo.
4. Tenere i bastoncini coperti, quando non vengono utilizzati.
5. Non usare se le colonie sono molto ridotte (diametro < 0,5 mm).

Durante tutte le procedure, impiegare tecniche asettiche e osservare le precauzioni stabilite contro i rischi microbiologici. Dopo l'inoculo, sterilizzare in autoclave la provetta, il bastoncino per inoculo **Prompt** e gli altri materiali contaminati.

Modalità di conservazione - Conservare i sistemi **Prompt** a temperatura ambiente (2–27 °C).

Deterioramento del prodotto - Non usare le provette per inoculo **Prompt** se presentano incrinature, se il tappo è incrinato o se la soluzione fisiologica è torbida.

RACCOLTA E TRASPORTO DEI CAMPIONI

I campioni pervenuti al laboratorio devono essere trattati con la normale procedura seguita per la preparazione di una piastra di coltura primaria.

PROCEDURA

Materiale fornito: 62 bastoncini per inoculo **Prompt** e 60 provette per inoculo **Prompt**.

Materiali richiesti ma non forniti: Terreni di coltura accessori, reagenti, microrganismi per controllo di qualità e apparecchiature di laboratorio necessarie.

Procedura del test - Il **Prompt** Inoculation System va utilizzato per la preparazione di inoculi in procedure di disco-diffusione.

A. Preparazione della sospensione batterica

1. Rimuovere dalla confezione il numero necessario di provette per inoculo **Prompt** e disporle in un portaprovette.
2. Estrarre dalla confezione un bastoncino per inoculo.
3. Tenendo la punta del bastoncino *perpendicolare* alla superficie dell'agar, toccare cinque colonie isolate con diametro superiore a 1 mm. (Come riferimento, il diametro della punta del bastoncino è di 2 mm.) Non penetrare l'agar. Non strisciare o trascinare la punta da una colonia all'altra.

N.B. Se le colonie sono piccole (diametro da 0,5–1 mm), toccarne dieci invece di cinque. Se si tratta di colonie molto piccole, puntiformi, continuare l'incubazione della piastra primaria fino a quando raggiungono un diametro di circa 0,5–1 mm. Se è improbabile che il diametro raggiunga 0,5 mm (ad es., alcuni streptococchi), è necessario ricorrere a un metodo alternativo per la preparazione dell'inoculo.

4. Tenendo con una mano il bastoncino per l'inoculo, rimuovere dal portaprovette una provetta per inoculo **Prompt**.
5. Abbassare lateralmente il tappo della provetta finché non scatta via.
6. Introdurre nella provetta il bastoncino per inoculo e premere con un movimento rotatorio per assicurare una chiusura a tenuta.
7. Vortexare energicamente la provetta per 10 s per distaccare i batteri dalla punta del bastoncino. In caso di mancato distacco dal bastoncino, lasciar riposare la soluzione per 5 min e vortexare di nuovo.
8. Ripetere le operazioni da 2 a 7 per tutte le provette.
9. Usare la sospensione batterica entro 6 h dalla preparazione. Se non si utilizza la soluzione subito dopo la preparazione, agitarla energicamente immediatamente prima dell'uso per risospendere i batteri. Per *H. influenzae*, usare la sospensione entro 3 h dalla preparazione.

B. Inoculo di una piastra agar Mueller Hinton o agar HTM

1. Estrarre dalla provetta il bastoncino per inoculo. Eliminarlo in un contenitore adatto per la sterilizzazione.
2. Immergere un tampone di cotone sterile nella sospensione batterica. Per eliminare il liquido in eccesso, ruotare più volte il tampone comprimendolo contro la parete interna della provetta, al di sopra del livello del liquido.
3. Strisciare la piastra seguendo una tecnica convenzionale e procedere al test di sensibilità.[4]

Controllo di qualità per l'utilizzatore - Il **Prompt** Inoculation System viene utilizzato nell'ambito di un test diagnostico multicomponente. Quando viene impiegato per la procedura NCCLS di preparazione dell'inoculo, si devono ottenere risultati conformi allo standard NCCLS per le colture di controllo.[4]

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 informazioni sulla prassi appropriata di controllo di qualità, si raccomanda di consultare le linee guida NCCLS e le norme CLIA.

RISULTATI

Se usato secondo le istruzioni, il **Prompt** Inoculation System produce un inoculo adatto a testare la maggior parte degli isolati clinici con la procedura Bauer-Kirby. I risultati dei test di sensibilità ottenuti con il sistema **Prompt** dimostrano una concordanza complessiva del 97% con la procedura standard Bauer-Kirby.

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

1. Non usare il **Prompt** Inoculation System quando il diametro della colonia è inferiore a 0,5 mm. Fra i microrganismi che possono presentare un diametro inferiore a 0,5 mm vi sono *Streptococcus* spp. non enterococchi, *S. bovis* e *S. agalactiae* (gruppo B).

   La selezione di colonie troppo piccole determina un inoculo insufficiente e può far sì che un organismo sensibile appaia resistente. Per le colonie con diametro inferiore a 0,5 mm è necessario adottare un metodo alternativo di preparazione dell'inoculo.
2. È possibile che alcuni microrganismi mucoidi, come *Klebsiella* o *Pseudomonas* "filamentosa" non aderiscano al bastoncino quando si tenta di prelevare la colonia. Questo sarà visivamente evidente. Per tali microrganismi è necessario adottare un metodo alternativo di preparazione dell'inoculo.

PRESTAZIONI DELLA METODICA

Trecento (300) risultati di sensibilità ottenuti da inoculi preparati con la tecnica del sistema **Prompt** sono stati comparati con i risultati ottenuti da inoculi preparati seguendo la procedura standard NCCLS.[11] La frequenza relativa dei generi testati è stata: *Escherichia* (16,7%), *Klebsiella* (10%), *Proteus* (14,7%), *Providencia* (8%), *Morganella* (4%), *Enterobacter* (8,7%), *Serratia* (4,7%), *Pseudomonas* (6,7%), *Staphylococcus* (12,7%), enterococchi (8,7%) e altri *Streptococcus* gruppo D e gruppo B (5,3%). La concordanza di interpretazione tra i test di sensibilità mediante disco-diffusione inoculati secondo la procedura standard NCCLS e il sistema **Prompt** è stata del 97,0% per 3.578 combinazioni farmaci-batteri. Dopo 6 h, sono state rilevate differenze significative nei diametri delle zone; tuttavia, all'interpretazione, la concordanza complessiva è stata del 97,9% per le 1.187 combinazioni farmaci-batteri testate. La media complessiva per 742 conte batteriche gram-negative e gram-positive è stata $1,85 \times 10^8$ UFC con un intervallo di confidenza del 95% da $4,66 \times 10^7$ a $7,36 \times 10^8$ UFC.[11] In un altro studio con 14 ceppi di *H. influenzae*, la densità media dell'inoculo di sospensioni preparate di fresco è stata di $1,5 \pm 0,1 \times 10^8$ UFC/mL. Dopo 3 h a temperatura ambiente, la densità era di $0,7 \pm 0,2 \times 10^8$ UFC/mL.[13] In questo studio, la concordanza complessiva è stata del 98,4%, alla comparazione con un dispositivo fotometrico, e del 97,9%, alla comparazione con il metodo visivo dello standard McFarland.[13]

DISPONIBILITÀ

N. di cat.	Descrizione
226306	**BBL Prompt** Inoculation System, 60 provette e 62 bastoncini per inoculo.

BIBLIOGRAFIA: Vedere "References" nel testo inglese.

BD BBL Prompt Inoculation System

Para uso con la prueba de sensibilidad con difusión en disco

Español

USO PREVISTO

El sistema **BBL Prompt** Inoculation System (sistema de inoculación **BBL Prompt**) se utiliza para preparar suspensiones normalizadas de bacterias para el procedimiento de la prueba de sensibilidad antimicrobiana con difusión en disco de Bauer-Kirby. Se puede utilizar el sistema para bacterias de crecimiento rápido, tales como *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., enterococos y algunos estreptococos no enterocócicos. También se puede utilizar para *Haemophilus influenzae*.

RESUMEN Y EXPLICACION

El procedimiento de Bauer-Kirby es un método normalizado para la determinación de la sensibilidad antimicrobiana basado en el principio de difusión en disco de gel de agar[1-3]. Este método ha sido publicado como norma de consenso por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) de Estados Unidos y se revisa y actualiza periódicamente[4].

Se ha demostrado que la concentración de inóculo es un factor importante para obtener resultados válidos con el procedimiento de Bauer-Kirby[2-5]. En el procedimiento de Bauer-Kirby original se utilizaba un inóculo preparado a partir de cultivos en la fase logarítmica de crecimiento. Esto requiere la incubación en caldo durante varias horas para lograr la densidad de inóculo deseada, equivalente al patrón de turbidez 0,5 de McFarland, que produce una concentración aproximada de 1 x 10^8 UFC/mL[3-5]. Varios estudios han demostrado con posterioridad que la normalización directa del inóculo (es decir, sin incubación) es una alternativa aceptable[5-7]. Para los organismos exigentes que pueden crecer lentamente en caldo, el método de elección es el ajuste directo de la preparación de inóculo. La edición M2-T4 de la norma de difusión en disco del NCCLS incluía un procedimiento revisado para *Haemophilus influenzae*, en el que se utilizó un medio nuevo, el medio de prueba de Haemophilus (Haemophilus Test Medium, HTM)[8]. Dicho procedimiento recomendaba utilizar un dispositivo fotométrico para ajustar la densidad del inóculo al patrón 0,5 de McFarland.

El sistema **BBL Prompt** Inoculation System es un dispositivo que permite la normalización directa del inóculo sin ajustes de la turbidez ni preincubación[9-11]. Este método se considera aceptable para análisis sistemáticos[4]. Se ha demostrado que el sistema **Prompt** también produce resultados satisfactorios en la preparación de inóculo para *H. influenzae* en el procedimiento de Bauer-Kirby[12].

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

La varilla del sistema **Prompt** Inoculation System se pone en contacto con varias colonias bacterianas en una placa de aislamiento primario y se coloca en el tubo de solución salina suministrado con el sistema. Se suspenden las bacterias en la solución salina agitando el tubo con un agitador de tipo vórtex. Cuando se utiliza el sistema **Prompt** Inoculation System de esta manera, para la mayoría de las bacterias se puede prever un inóculo con una concentración aproximada de 1,5 x 10^8 unidades formadoras de colonias por mL (UFC/mL), que es el equivalente a la densidad de inóculo lograda ajustando la turbidez a la de un patrón 0,5 de McFarland[4]. La concordancia de los resultados de sensibilidad es superior al 95% en comparación con el método estandarizado[11]. Para la mayoría de las bacterias, el inóculo **Prompt** debe utilizarse en las 6 h siguientes a su preparación. Para *H. influenzae*, el inóculo debe utilizarse en las 3 h siguientes a su preparación. El sistema **Prompt** Inoculation System facilita la inoculación al eliminar: 1) el período de incubación y 2) la necesidad de realizar un ajuste manual de la densidad del inóculo.

DESCRIPCION DEL PRODUCTO

El sistema **Prompt** Inoculation System consta de una varilla de inoculación y un tubo de solución salina. La varilla es de polipropileno y está conectada a un tapón. La punta de la varilla presenta un diseño de ranuras paralelas con una transversal para contener un número específico de bacterias. La solución de suspensión de células, formada por 1 mL de solución salina estéril, se suministra en un tubo de plástico con una tapa de cierre a presión.

Advertencias y precauciones:

Para uso diagnóstico *in vitro*.

1. Las colonias deben seleccionarse de placas de cultivo RECIENTES (≤ 24 h).
2. NO SOMETER AL CALOR la varilla de inoculación plástica. Se derretirá.
3. Para evitar la contaminación, siempre mantener los dedos por encima del borde de la varilla de inoculación.
4. Mantener las varillas cubiertas cuando no se utilicen.
5. No utilizar si las colonias son muy pequeñas (< 0,5 mm de diámetro).

Emplear una técnica aséptica y seguir las precauciones habituales contra riesgos microbiológicos durante todos los procedimientos. Después de la inoculación, el tubo de inoculación **Prompt**, la varilla **Prompt** y otros materiales contaminados deben esterilizarse en autoclave.

Instrucciones para el almacenamiento: Las unidades **Prompt** deben almacenarse a temperatura ambiente (2-27 °C).

Deterioro del producto: Los tubos de inoculación **Prompt** no deben utilizarse si el tubo o la tapa presenta grietas o si la solución salina está turbia.

RECOGIDA Y TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS

Las muestras recibidas en el laboratorio deben ser tratadas de la manera habitual para la preparación de una placa de cultivo primario.

PROCEDIMIENTO

Material suministrado: 62 varillas de inoculación **Prompt** y 60 tubos de inoculación **Prompt**.

Materiales necesarios pero no suministrados: Medios de cultivo auxiliar, reactivos, microorganismos para control de calidad y el equipo de laboratorio que se requiera.

Procedimiento del análisis: El sistema **Prompt** Inoculation System puede utilizarse para la preparación de inóculos en procedimientos de difusión en disco.

A. Preparación de la suspensión bacteriana
   1. Retirar el número necesario de tubos de inoculación **Prompt** de la caja y colocarlos en una gradilla de tubos de ensayo.
   2. Retirar una varilla de inoculación de la caja.
   3. Sosteniendo la punta de la varilla *perpendicular* a la superficie del agar, tocar cinco colonias aisladas de más de 1 mm de diámetro. (Como referencia, la punta de la varilla tiene 2 mm de diámetro). No penetrar con la varilla en el agar. No raspar ni arrastrar la punta entre las colonias.

   NOTA: Si las colonias son pequeñas (0,5-1 mm de diámetro), tocar diez colonias en lugar de cinco. Para las colonias diminutas o en cabeza de alfiler, continuar la incubación de la placa primaria hasta lograr un diámetro de aproximadamente 0,5-1 mm. Si no es probable que el diámetro de la colonia llegue a 0,5 mm (p. ej., algunos estreptococos), debe utilizarse otro método para la preparación del inóculo.

   4. Sosteniendo la varilla de inoculación con una mano, retirar un tubo de inoculación **Prompt** de la gradilla.
   5. Girar la tapa del tubo hasta que se abra.
   6. Colocar la varilla de inoculación en el tubo y ejercer presión girando para obtener un cierre hermético.
   7. Agitar el tubo con fuerza durante 10 s para liberar las bacterias de la punta de la varilla. Si no se libera el microorganismo de la varilla, dejar reposar la solución durante 5 min y agitar nuevamente.
   8. Repetir los pasos 2 a 7 para todos los tubos.
   9. La suspensión bacteriana debe utilizarse en las 6 h siguientes a su preparación. Si no se utiliza de inmediato después de la preparación, agitar con fuerza para volver a suspender las bacterias justo antes de usarla. Para *H. influenzae*, utilizarla en las 3 h siguientes a su preparación.

B. Inoculación de placa de agar de Mueller Hinton o HTM
   1. Retirar una varilla de inoculación del tubo. Desechar en un recipiente apropiado para su esterilización.
   2. Sumergir una torunda de algodón estéril en la suspensión bacteriana. Para retirar el exceso de líquido, girar la torunda varias veces ejerciendo una presión firme en la pared interna del tubo por encima del nivel de líquido.
   3. Sembrar la placa utilizando las técnicas convencionales y realizar la prueba de sensibilidad[4].

Control de calidad del usuario: El sistema **Prompt** Inoculation System se utiliza como parte de una prueba diagnóstica de múltiples componentes. Cuando se utiliza para el procedimiento de preparación de inóculo del NCCLS, debe producir los resultados presentados en la norma del NCCLS para los cultivos de control[4].

El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa aplicable, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad de su laboratorio. Se recomienda consultar las instrucciones del NCCLS y la normativa de la CLIA (Clinical Laboratory Improvement Act) correspondientes para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

RESULTADOS

Cuando se utiliza según las instrucciones, el sistema **Prompt** Inoculation System proporciona el inóculo apropiado para la prueba de Bauer-Kirby para la mayoría de los aislados clínicos. Los resultados de la prueba de sensibilidad obtenidos con el sistema **Prompt** Inoculation System muestran una concordancia global del 97,0% con el procedimiento estándar de Bauer-Kirby.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. El sistema **Prompt** Inoculation System no debe utilizarse cuando el tamaño de las colonias es inferior a 0,5 mm de diámetro. Ejemplos de microorganismos cuyas colonias posiblemente no alcancen el diámetro necesario de 0,5 mm: *Streptococcus* spp. diferentes de los enterococos, *S. bovis* y *S. agalactiae* (grupo B).

   La selección de colonias demasiado pequeñas produce una inoculación insuficiente, lo que puede hacer que un microorganismo resistente aparezca como sensible. Se debe utilizar otro método de preparación del inóculo para las colonias con un diámetro inferior a 0,5 mm.
2. Algunos microorganismos mucoides, tales como *Pseudomonas* o *Klebsiella* "filamentosas" tal vez no se adhieran a la varilla al intentar captar la colonia. Esto se detecta a simple vista. Para dichos organismos se debe utilizar otro método de preparación del inóculo.

CARACTERISTICAS DE RENDIMIENTO ESPECIFICAS

Trescientos (300) resultados de sensibilidad obtenidos de inóculos preparados con la técnica del sistema **Prompt** se compararon con los resultados obtenidos de inóculos preparados según el procedimiento de la norma del NCCLS[11]. Las frecuencias relativas de los géneros analizados fueron *Escherichia* (16,7%), *Klebsiella* (10%), *Proteus* (14,7%), *Providencia* (8%), *Morganella* (4%), *Enterobacter* (8,7%), *Serratia* (4,7%), *Pseudomonas* (6,7%), *Staphylococcus* (12,7%), enterococos (8,7%) y otros *Streptococcus* de los grupos B y D (5,3%). La

concordancia de interpretación entre las pruebas de sensibilidad de difusión en disco, inoculadas según el procedimiento de la norma del NCCLS y el sistema **Prompt** Inoculation System fue del 97,0% para 3.578 combinaciones de fármacos y bacterias. Después de 6 h de reposo, se observaron diferencias significativas en los diámetros de zona. No obstante, la concordancia general de interpretación fue del 97,9% para las 1.187 combinaciones analizadas de fármacos y bacterias. La media general de los 742 recuentos bacterianos gramnegativos y grampositivos fue de 1,85 x 10^8 UFC con un intervalo de confianza del 95% de 4,66 x 10^7 a 7,36 x 10^8 UFC[11]. En otro estudio con 14 cepas de *H. influenzae*, la densidad media del inóculo de suspensiones recién preparadas fue de 1,5 ± 0,1 x 10^8 UFC/mL. Después de 3 h a temperatura ambiente, la densidad fue de 0,7 ± 0,2 x 10^8 UFC/mL[13]. En este estudio, la concordancia general en comparación con un dispositivo fotométrico fue del 98,4%; con el método visual del patrón de McFarland fue del 97,9%[13].

DISPONIBILIDAD

Nº de cat.	**Descripción**
226306	**BBL Prompt** Inoculation System, 60 tubos y 62 varillas de inoculación.

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

Manufacturer / Výrobce / Producent / Fabrikant / Tootja / Valmistaja / Fabricant / Hersteller / Κατασκευαστής / Gyártó / Ditta produttrice / Gamintojas / Producent / Fabricante / Výrobca / Tillverkare

Use by / Spotřebujte do / Anvendes før / Houdbaar tot / Kasutada enne / Viimeinkäyttöpäivä / A utiliser avant / Verwendbar bis / Ημερομηία λήξης / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Naudokite iki / Brukes før / Stosować do / Utilizar em / Použite do / Usar antes de / Använd före / YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month) / RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = konec měsíce) ÅÅÅÅ-MM-DD / ÅÅÅÅ-MM (MM = slutning af måned) / JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand) AAAA-KK-PP / AAAA-KK (KK = kuu lõpp) VVVV-KK-PP / VVVV-KK (kuukauden loppuun mennessä) AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois) / JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende) / EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα) / ÉÉÉÉ-HH-NN / ÉÉÉÉ-HH (HH = hónap utolsó napja) AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese) / MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mėnesio pabaiga) ÅÅÅÅ-MM-DD / ÅÅÅÅ-MM (MM = slutten av måneden) RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca) AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês) / RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec mesiaca) aaaa-mm-dd / aaaa-mm (mm = fin del mes) / ÅÅÅÅ-MM-DD / ÅÅÅÅ-MM (MM = slutet på månaden)

REF Catalog number / Katalogové číslo / Katalognummer / Catalogusnummer / Kataloogi number / Tuotenumero / Numéro catalogue / Bestellnummer / Αριθμός καταλόγου / Katalógusszám / Numero di catalogo / Katalogo numeris / Numer katalogowy / Número do catálogo / Katalógové číslo / Número de catálogo

EC REP Authorized Representative in the European Community / Autorizovaný zástupce pro Evropskou unii / Autoriseret repræsentant i EU / Erkend vertegenwoordiger in de Europese Unie / Volitatud esindaja Euroopa Nõukogus / Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä / Représentant agréé pour la C.E.E. / Autorisierte EG-Vertretung / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Hivatalos képviselet az Európai Unióban / Rappresentante autorizzato nella Comunità europea / Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / Autorisert representant i EU / Autoryzowane przedstawicielstwo w Unii Europejskiej / Representante autorizado na União Europeia / Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Auktoriserad representant i EU

IVD In Vitro Diagnostic Medical Device / Lékařské zařízení určené pro diagnostiku in vitro / In vitro diagnostisk medicinsk anordning / Medisch hulpmiddel voor in vitro diagnose / In vitro diagnostika meditsiiniaparatuur / Lääkinnällinen in vitro -diagnostiikkalaite / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή / In vitro diagnosztikai orvosi eszköz / Dispositivo medico diagnostico in vitro. / In vitro diagnostikos prietaisas / In vitro diagnostisk medisinsk utstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Medicínska pomôcka na diagnostiku in vitro / Dispositivo médico de diagnóstico in vitro / Medicinsk anordning för in vitro-diagnostik

Temperature limitation / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning / Temperatuurlimiet / Temperatuuri piirang / Lämpötilarajoitus / Température limite / Zulässiger Temperaturenbereich / Όριο θερμοκρασίας / Hőmérsékleti határ / Temperatura limite / Laikymo temperatūra / Temperaturbegrensning / Ograniczenie temperatury / Limitação da temperatura / Ohraničenie teploty / Limitación de temperatura / Temperaturbegränsning

LOT Batch Code (Lot) / Kód (číslo) šarže / Batch kode (Lot) / Chargenummer (lot) / Partii kood / Eräkoodi (LOT) / Code de lot (Lot) / Chargencode (Chargenbezeichnung) / Κωδικός παρτίδας (Παρτίδα) / Tétel száma (Lot) / Codice del lotto (partita) / Partijos numeris (Lot) / Batch-kode (Serie) / Kod partii (seria) / Código do lote (Lote) / Kód série (šarža) / Código de lote (Lote) / Satskod (parti)

Consult Instructions for Use / Prostudujte pokyny k použití / Læs brugsanvisningen / Raadpleeg gebruiksaanwijzing / Lugeda kasutusjuhendit / Tarkista käyttöohjeista / Consulter la notice d'emploi / Gebrauchsanweisung beachten / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Olvassa el a használati utasítást / Consultare le istruzioni per l'uso / Skaitykite naudojimo instrukcijas / Se i bruksanvisningen / Zobacz instrukcja użytkowania / Consulte as instruções de utilização / Pozri Pokyny na používanie / Consultar las instrucciones de uso / Se bruksanvisningen

Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, Maryland 21152 USA
800-638-8663

EC REP BENEX Limited
Bay K 1a/d, Shannon Industrial Estate
Shannon, County Clare, Ireland
Tel: 353-61-47-29-20
Fax: 353-61-47-25-46

Prompt is a trademark of 3M.
BD, BD Logo and BBL are trademarks of Becton, Dickinson and Company.
©2003 BD.

38-9018-0540-8