

BD Sistemas de Identificación BBL Crystal Equipo para la identificación de *Neisseria/Haemophilus*

Español

USO PREVISTO

El sistema **BBL Crystal** para la identificación (ID) de *Neisseria/Haemophilus* (N/H) es un método de identificación en miniatura que utiliza substratos convencionales, fluorogénicos y cromogénicos modificados. Se ha diseñado para la identificación de bacterias *Neisseria* y *Haemophilus* además de varias otras bacterias exigentes aisladas frecuentemente de muestras clínicas.^{1,2,6,15,18}

RESUMEN Y EXPLICACION

Ya en 1918 había informes sobre métodos micrométricos para la identificación bioquímica de microorganismos.³ Varias publicaciones han incluido estudios sobre el uso de discos de papel impregnados de reactivos y métodos con microtubos para diferenciar las bacterias entéricas.^{3,4,8,19,21} El interés en diseñar sistemas de identificación en miniatura llevó a la introducción de varios sistemas comerciales en los últimos años de la década de 1960, con las ventajas de menor espacio necesario para el almacenamiento, extensión de la fecha de caducidad, control de calidad uniforme y facilidad de uso.

En general, varios de los procedimientos de análisis usados en los sistemas **BBL Crystal ID** son modificaciones de métodos clásicos, incluyendo pruebas para la fermentación, la oxidación, la degradación y la hidrólisis de varios substratos. Además, hay substratos ligados a cromógenos y fluorógenos, como en el panel **BBL Crystal N/H ID**, para la detección de enzimas que son utilizadas por los microbios para metabolizar varios substratos.^{5,6,8-10,13-17}

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

Después de un periodo de incubación, se examinan los pocillos para determinar cambios de color o presencia de fluorescencia que resultan de las actividades metabólicas de los microorganismos. La serie de colores resultante de las 29 reacciones se convierte en un número de perfil de diez dígitos que se utiliza como la base de identificación.²⁰ Las series de reacciones bioquímicas y enzimáticas de los 29 substratos **BBL Crystal N/H ID** para una gran variedad de microorganismos están almacenadas en la base de datos **BBL Crystal N/H ID**. La identificación se deriva de un análisis comparativo entre las series de reacciones del aislado de la prueba y las de la base de datos. La Tabla 1 muestra la lista de grupos taxonómicos que comprende la base de datos actual.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

Los paneles del sistema **BBL Crystal N/H ID** contienen 29 substratos bioquímicos y enzimáticos deshidratados. Para rehidratar los substratos se utiliza una suspensión de bacterias en el fluido de inóculo. Las pruebas usadas en el sistema se basan en la utilización y degradación microbiana de substratos específicos detectados por varios sistemas indicadores. La hidrólisis enzimática de los substratos fluorogénicos que contienen derivados cumarínicos del 4-metil-umbeliferona (4MU) o del 7-amino-4-metilcumarín (7-AMC) resulta en un aumento de la fluorescencia que se detecta fácilmente a simple vista con una lámpara de luz ultravioleta.^{13,14,16,17} Los substratos cromogénicos, después de sufrir hidrólisis, producen cambios de color que pueden detectarse visualmente. Además, hay pruebas que detectan la capacidad de un organismo de hidrolizar, degradar, reducir o utilizar de otro modo un sustrato en el sistema **BBL Crystal ID**.

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

Tabla 1**Grupos taxonómicos en el sistema BBL Crystal N/H ID**

<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>
<i>Cardiobacterium hominis</i> ¹
<i>Eikenella corrodens</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>
<i>Haemophilus aphrophilus/ paraphrophilus</i>
<i>Haemophilus ducreyi</i>
<i>Haemophilus haemoglobinophilus</i> ¹
<i>Haemophilus haemolyticus</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>
<i>Haemophilus parahaemolyticus</i> ¹
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>
<i>Haemophilus segnis</i> ¹
<i>Kingella denitrificans</i>
<i>Kingella kingae</i>
<i>Kingella</i> especie (incluye <i>K. denitrificans</i> y <i>K. kingae</i>)
<i>Moraxella atlantae</i>
<i>Moraxella (Branhamella) catarrhalis</i>
<i>Moraxella lacunata</i> ¹
<i>Moraxella nonliquefaciens</i>
<i>Moraxella osloensis</i>
<i>Moraxella phenylpyruvica</i> ¹
<i>Moraxella</i> especie (incluye <i>M. atlantae</i> , <i>M. lacunata</i> , <i>M. nonliquefaciens</i> , <i>M. osloensis</i> y <i>M. phenylpyruvica</i>)
<i>Neisseria cinerea</i> ¹
<i>Neisseria elongata</i> (incluye <i>N. elongata</i> ssp <i>elongata</i> , <i>N. elongata</i> ssp <i>glycolytica</i> y <i>N. elongata</i> ssp <i>nitroreducens</i>)
<i>Neisseria flavescens</i> ¹
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
<i>Neisseria lactamica</i>
<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>Neisseria mucosa</i>
<i>Neisseria sicca</i>
<i>Neisseria subflava</i> (incluye <i>N. subflava</i> biovar <i>flava</i> , <i>N. subflava</i> biovar <i>perflava</i> y <i>N. subflava</i> biovar <i>subflava</i>)
<i>Neisseria weaverii</i> ¹
<i>Oligella</i> especie (incluye <i>O. urethralis</i> y <i>O. ureolytica</i>)
<i>Oligella ureolytica</i> ¹
<i>Oligella urethralis</i>
<i>Pasteurella multocida</i>
<i>Suttonella indologenes</i>

¹ = Estos grupos taxonómicos tienen <10 números de perfil **BBL Crystal** únicos en la base de datos actual.

Tabla 2

Principios de las pruebas usadas en el sistema BBL Crystal N/H ID

Posición en el panel	Característica de la prueba	Código	Principio (Referencia)
4A	Control fluorescente negativo	FCT	Control para estandarizar los resultados del sustrato fluorescente.
2A	4MU-fosfato	FHO	La hidrólisis enzimática del enlace amídico o glicosídico resulta en la producción de un derivado cumarínico fluorescente. ^{5,9,13,14,16,17}
1A	L-prolina-AMC	FPR	
4B	L-serina-AMC	FSE	
2B	LYS-ALA-AMC	FLA	
1B	L-triptófano-AMC	FTR	
4C	L-fenilalanina-AMC	FPH	
2C	N-succinilo-ALA-PRO-ALA-AMC	FNS	
1C	ALA-ALA-PHE-AMC	FAA	
4D	L-ácido glutámico-AMC	FTA	
2D	L-arginina-AMC	FAR	
1D	Ornitina-AMC	FOR	
4E	Glicina-AMC	FGL	
2E	GLY-PRO-AMC	FGP	
1E	4MU-β-D-galactósido	FBG	
4F	Sacarosa	SAC	La utilización de carbohidratos resulta en una caída del pH y un cambio en el indicador (rojo de fenol). ^{1-4,8,18}
2F	Maltotriosa	MTT	
1F	Carubinosa	CAR	
4G	Piranosas	PYO	
2G	Maltobiosas	MTB	
1G	Disacáridas	DIS	
4H	Riberol	RBL	
2H	Levulosa	LEV	
1H	p-nitrofenil-fosforilcolina	PHC	La hidrólisis enzimática del glicósido incoloro arilo sustituido resulta en un p-nitrofenol amarillo. ^{5,10,14}
4I	γ-L-glutamil-p-nitroanilida	GGL	La hidrólisis enzimática del sustrato amídico incoloro resulta en una p-nitroanilina amarilla. ^{5,10,14}
2I	p-nitrofenil-fosfato	PHO	La hidrólisis enzimática del glicósido incoloro arilo sustituido resulta en un p-nitrofenol amarillo. ^{5,10,14}
1I	o-nitrofenil-β-D-galactósido (ONPG)	OPG	
4J	Urea	URE	La hidrólisis de la urea y el amonio que resulta cambian el color del indicador de pH (azul de bromotimol). ^{2,7,12}
2J	Resazurina	REZ	La reducción de la resazurina a la resorufina resulta en un cambio de color. ⁶
1J	Ornitina	ORN	La utilización de la ornitina resulta en una subida del pH y un cambio en el color del indicador (púrpura de bromocresol). ²

REACTIVOS

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

Tabla 3

Reactivos usados en el sistema **BBL Crystal N/H ID**

Posición en el panel	Substrato	Código	Pos.	Neg.	Ingredientes Activos	Cantidad Aprox. (g/L)
4A	Control fluorescente negativo	FCT	n/a	n/a	Derivado cumarínico fluorescente	≤ 1
2A	4MU-fosfato	FHO	Fluorescencia azul > pocillo FCT	Fluorescencia azul ≤ pocillo FCT	4MU-fosfato	≤ 1
1A	L-prolina-AMC	FPR	Fluorescencia azul > pocillo FCT	Fluorescencia azul ≤ pocillo FCT	L-prolina-AMC	≤ 1
4B	L-serina-AMC	FSE	Fluorescencia azul > pocillo FCT	Fluorescencia azul ≤ pocillo FCT	L-serina-AMC	≤ 1
2B	LYS-ALA-AMC	FLA	Fluorescencia azul > pocillo FCT	Fluorescencia azul ≤ pocillo FCT	LYS-ALA-AMC	≤ 1
1B	L-triptófano-AMC	FTR	Fluorescencia azul > pocillo FCT	Fluorescencia azul ≤ pocillo FCT	L-triptófano-AMC	≤ 1
4C	L-fenilalanina-AMC	FPH	Fluorescencia azul > pocillo FCT	Fluorescencia azul ≤ pocillo FCT	L-fenilalanina-AMC	≤ 1
2C	N-succinilo-ALA-PRO-ALA-AMC	FNS	Fluorescencia azul > pocillo FCT	Fluorescencia azul ≤ pocillo FCT	N-succinilo-ALA-PRO-ALA-AMC	≤ 1
1C	ALA-ALA-PHE-AMC	FAA	Fluorescencia azul > pocillo FCT	Fluorescencia azul ≤ pocillo FCT	ALA-ALA-PHE-AMC	≤ 1
4D	L-ácido glutámico-AMC	FTA	Fluorescencia azul > pocillo FCT	Fluorescencia azul ≤ pocillo FCT	L-ácido glutámico-AMC	≤ 1
2D	L-arginina-AMC	FAR	Fluorescencia azul > pocillo FCT	Fluorescencia azul ≤ pocillo FCT	L-arginina-AMC	≤ 1
1D	Ornitina-AMC	FOR	Fluorescencia azul > pocillo FCT	Fluorescencia azul ≤ pocillo FCT	Ornitina-AMC	≤ 1
4E	Glicina-AMC	FGL	Fluorescencia azul > pocillo FCT	Fluorescencia azul ≤ pocillo FCT	Glicina-AMC	≤ 1
2E	GLY-PRO-AMC	FGP	Fluorescencia azul > pocillo FCT	Fluorescencia azul ≤ pocillo FCT	GLY-PRO-AMC	≤ 1
1E	4MU-β-D-galactósido	FBG	Fluorescencia azul > pocillo FCT	Fluorescencia azul ≤ pocillo FCT	4MU-β-D-galactósido	≤ 1
4F	Sacarosa	SAC	Dorado/amarillo	Naranja/rojo	Sacarosa	≤ 300
2F	Maltotriosa	MTT	Dorado/amarillo	Naranja/rojo	Maltotriosa	≤ 300
1F	Carubinoso	CAR	Dorado/amarillo	Naranja/rojo	Carubinoso	≤ 300
4G	Piranososa	PYO	Dorado/amarillo	Naranja/rojo	Piranososa	≤ 300
2G	Maltobiosa	MTB	Dorado/amarillo	Naranja/rojo	Maltobiosa	≤ 300
1G	Disacárido	DIS	Dorado/amarillo	Naranja/rojo	Disacárido	≤ 300
4H	Riberol	RBL	Dorado/amarillo	Naranja/rojo	Riberol	≤ 300
2H	Levulosa	LEV	Dorado/amarillo	Naranja/rojo	Levulosa	≤ 300
1H	p-n-p-fosforilcolina	PHC	Amarillo	Incoloro	p-n-p-fosforilcolina	≤ 10
4I	γ-L-glutamil-p-nitroanilida	GGL	Amarillo	Incoloro	γ-L-glutamil-p-nitroanilida	≤ 10
2I	p-n-p-fosfato	PHO	Amarillo	Incoloro	p-n-p-fosfato	≤ 10
1I	ONPG	OPG	Amarillo	Incoloro	ONPG	≤ 10
4J	Urea	URE	Verde azulado	Amarillo/verde	Urea	≤ 50
2J	Resazurina	REZ	Rosado	Azul/púrpura	Resazurina	≤ 1
1J	Ornitina	ORN	Púrpura	Amarillo/gris	Ornitina	≤ 200

Precauciones: Diagnóstico *in vitro*

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

ALMACENAMIENTO Y MANEJO/VIDA UTIL

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

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

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

del tubo. Solamente el fluido de inóculo **BBL Crystal ANR, GP, RGP, N/H** puede usarse con los paneles del sistema **BBL Crystal N/H ID**.

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

RECOGIDA Y TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Los sistemas **BBL Crystal ID** **no** deben utilizarse directamente con muestras clínicas. Utilice aislados de un medio como agar chocolate, agar soja **Trypticase** con 5% de sangre de cordero (TSA), agar Columbia con 5% de sangre de cordero (Columbia) y agar nutritivo. También es aceptable el uso de medios selectivos como agar Martin-Lewis, agar Thayer-Martin modificado (MTM), medio New York City modificado (NYC), agar V (para *G. vaginalis*) y agar **GC-Lect**. No se deben utilizar los medios que contienen esculina. El aislado para la prueba debe ser un cultivo puro de no más de 18 – 24 h para la mayoría de los géneros; cultivos hasta 48 h pueden ser aceptables para algunos organismos de crecimiento lento. Solamente deben usarse torundas con puntas de algodón para preparar la suspensión del inóculo, ya que las torundas de poliéster pueden causar problemas en la inoculación de los paneles. (Vea “Limitaciones del procedimiento”). Las tapas deben utilizarse dentro de 1 h una vez retiradas de los envoltorios sellados con el fin de asegurar un rendimiento apropiado. La cubierta de plástico debe permanecer en la tapa hasta que se vaya a utilizar.

La incubadora utilizada debe ser humidificada para impedir la evaporación del fluido de los pocillos durante la incubación. La humedad relativa recomendada es del 40 – 60%. La utilidad de los sistemas **BBL Crystal ID** o cualquier otro procedimiento de diagnóstico a usarse con una muestra clínica está directamente afectado por la calidad de las mismas muestras. Se recomienda firmemente que los laboratorios utilicen los métodos discutidos en el *Manual of Clinical Microbiology* para tomar las muestras, transportarlas y sembrarlas en medios de aislamiento primario.^{1,17}

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

Materiales suministrados: Equipo **BBL Crystal N/H ID** –

20 tapas del panel **BBLCrystal N/H ID**,

20 bases **BBLCrystal**,

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

2 bandejas de incubación,

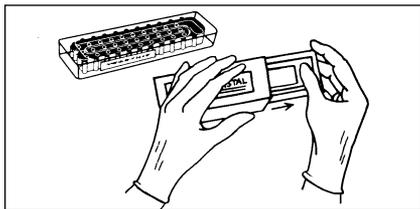
1 bloc de informes **BBLCrystal N/H ID**.

Materiales no suministrados: Torundas estériles de algodón (*no use torundas de poliéster*), incubadora (35 – 37 °C) sin CO₂ (40 – 60% de humedad relativa), patrón McFarland N° 3, visor para paneles **BBL Crystal**, Libro electrónico de códigos para los sistemas **BBL Crystal ID** o Libro de códigos manual **BBL Crystal N/H**, y medios de cultivo apropiados.

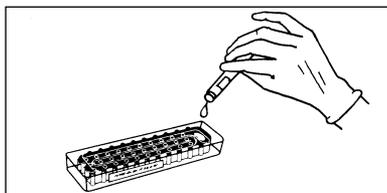
También son necesarios el equipo y material de laboratorio utilizado en la preparación, almacenamiento y manipulación de las muestras clínicas.

Procedimiento de la prueba: El sistema **BBL Crystal N/H ID** requiere una tinción de Gram.

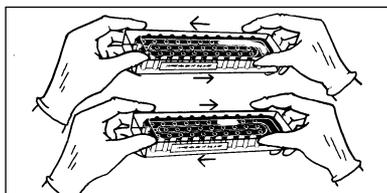
1. Saque las tapas de la envoltura. Deseche el desecante. Una vez sacadas de la envoltura, las tapas cubiertas deben usarse dentro de 1 h. No utilizar el panel si no hay desecante en la envoltura.
2. Tome un tubo de fluido de inóculo y anote el número de la muestra del paciente en la etiqueta. Usando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



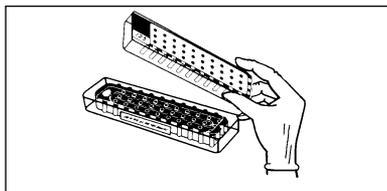
6. Vierta todo el contenido del tubo de fluido de inóculo en el área demarcada de la base.



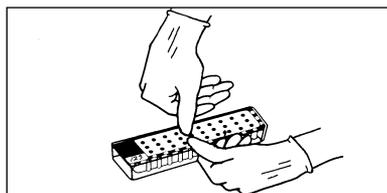
7. Tome la base con ambas manos, balanceándola suavemente hasta que los pocillos se llenen con el inóculo. Balancee la base *nuevamente* para escurrir el exceso de líquido de vuelta al área demarcada, y ponga la base sobre la mesa. Debido a las altas concentraciones de células en los paneles **BBL Crystal N/H ID**, se deberá balancear el inóculo a lo largo de las bases con cuidado para asegurarse el relleno completo de los pocillos. Antes de colocar la tapa, asegúrese de que no haya exceso de líquido entre los pocillos ni líquido proveniente del área demarcada en dirección a los pocillos.



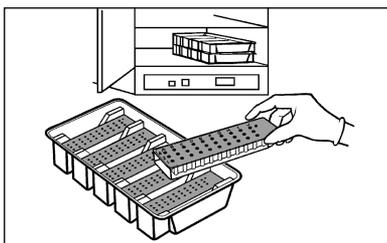
8. Alinie la tapa de modo que el extremo donde se encuentra la inscripción esté sobre el área demarcada de la base.



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



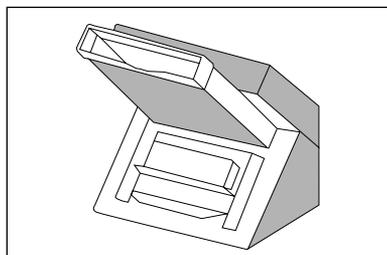
Prueba de cultivo puro: Para determinar la pureza del cultivo, extraiga una pequeña gota del tubo de fluido de inóculo con un alambre estéril, antes o después de inocular la base, e inocule un tubo de agar inclinado o una placa (cualquier medio de cultivo apropiado). Deseche el tubo del fluido de inóculo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



Incubación: Ponga los paneles inoculados en bandejas de incubación. Se pueden poner diez paneles en una bandeja (5 filas de 2 paneles). Todos los paneles deben incubarse **boca abajo** (ventana grande hacia arriba; etiqueta hacia abajo) en una incubadora sin CO₂ con 40 – 60% de **humedad relativa**. No deben apilarse más de dos bandejas durante la incubación. El tiempo de incubación para los paneles es de 4 h a una temperatura de 35 – 37 °C. **NOTA:** la incubad ora no debe abrirse continuamente durante el período de incubación (es preferible que se abra menos de 3 veces). Los paneles deben leerse dentro de 30 min después de sacarlos de la incubadora.

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

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



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

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

*(4A) = Control negativo de fluorescencia

El número de perfil resultante y la morfología celular, si se conocen, deben tabularse en un PC con el Libro electrónico de códigos para el sistema **BBL Crystal ID** instalado para obtener la identificación. También se dispone de un libro de códigos manual. Si no se dispone de un PC, póngase en contacto con el Servicio Técnico de BD para obtener ayuda con la identificación.

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

1. Inocule un panel con *Moraxella (Branhamella) catarrhalis* ATCC 25240 según las recomendaciones previas (consulte la sección "Procedimiento de la prueba").
2. Antes de la incubación, deje el panel a temperatura ambiente durante 1 min (no más de 2 min).
3. Lea y anote las reacciones con ayuda del visor para paneles y la plantilla de reacciones de color.
4. Si de acuerdo con la plantilla de color, cualquiera de los pocillos (excepto el pocillo 1J) fuera positivo (después de 1 – 2 min), NO USAR LOS PANELES de ese lote. Póngase en contacto con el Servicio Técnico de BD.
5. Si todos los pocillos son negativos, incube el panel durante 4 h entre 35 – 37 °C.
6. Lea el panel con ayuda del visor para paneles y la plantilla de color; anote las reacciones utilizando el bloc de informes.
7. Compare los resultados anotados con los de la Tabla 4. Si hay discrepancias en los resultados obtenidos, compruebe la pureza de la cepa del control de calidad antes de ponerse en contacto con el Servicio Técnico de BD.
8. La puerta de la incubadora no debe abrirse repetidamente durante el periodo de incubación (preferiblemente menos de 3 veces).

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

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

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

Se necesita una prueba de confirmación adicional antes de notificar un aislado identificado por el sistema como *Neisseria gonorrhoeae* en las siguientes situaciones: (1) cuando se obtienen resultados positivos de personas de bajo riesgo, (2) cuando se obtienen resultados positivos de pacientes con consecuencias sociológicas o medicolegales.¹¹

La base de datos del sistema **BBL Crystal N/H ID** se creó con medios de la marca **BBL**. La reactividad de algunos substratos en sistemas de identificación en miniatura puede depender de los medios suministrados para las preparaciones de los inóculos. Recomendamos el uso de los siguientes medios para ser utilizados con el sistema **BBL Crystal N/H ID**: chocolate, **TSA II**, Columbia y nutritivo. También es aceptable el uso de medios selectivos como Martin-Lewis, MTM, medio NYC, V y **GC-Lect**. No se deben utilizar medios que contienen esculina.

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

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

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

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

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

Las colonias deben tomarse de placas de chocolate, TSA, Columbia o agar nutritivo. También es aceptable el uso de medios selectivos como Martin-Lewis, MTM, medio NYC, V y **GC-Lect**.

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

Tabla 4
Plantilla del control de calidad para el sistema BBL Crystal N/H ID después de 4 horas de incubación en agar chocolate

Posición en el panel	Substrato	Código	<i>Moraxella (Branhamella) catarrhalis</i> ATCC 25240
4A	Control fluorescente negativo	FCT	-
2A	4MU-fosfato	FHO	-
1A	L-prolina-AMC	FPR	-
4B	L-serina-AMC	FSE	+
2B	LYS-ALA-AMC	FLA	v
1B	L-triptófano-AMC	FTR	v
4C	L-fenilalanina-AMC	FPH	+
2C	N-succinilo-ALA-PRO-ALA-AMC	FNS	+
1C	ALA-ALA-PHE-AMC	FAA	+
4D	L-ácido glutámico-AMC	FTA	-
2D	L-arginina-AMC	FAR	v
1D	Ornitina-AMC	FOR	v
4E	Glicina-AMC	FGL	+
2E	GLY-PRO-AMC	FGP	-
1E	4MU-β-D-galactósido	FBG	-
4F	Sacarosa	SAC	-
2F	Maltotriosa	MTT	-
1F	Carubinosa	CAR	-
4G	Piranososa	PYO	-
2G	Maltobiososa	MTB	-
1G	Disacárido	DIS	-
4H	Riberol	RBL	-
2H	Levulosa	LEV	-
1H	p-n-p-fosforilcolina	PHC	-
4I	γ-L-glutamilo-p-nitroanilida	GGL	-
2I	p-n-p-fosfato	PHO	-
1I	ONPG	OPG	-
4J	Urea	URE	-
2J	Resazurina	REZ	+
1J	Ornitina	ORN	v

Tabla 5
Cepas adicionales de control de calidad para el sistema BBL Crystal N/H ID después de 4 horas de incubación en agar chocolate

Posición en el panel	Substrato	Código	<i>Haemophilus aphrophilus</i> ATCC 19415	<i>Neisseria lactamica</i> ATCC 49142	<i>Kingella denitrificans</i> ATCC 33394	<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 35056
4A	Control fluorescente negativo	FCT	-	-	-	-
2A	4MU-fosfato	FHO	-	-	-	-
1A	L-prolina-AMC	FPR	-	+	+	-
4B	L-serina-AMC	FSE	v	+	+	v
2B	LYS-ALA-AMC	FLA	-	v	v	v
1B	L-triptófano-AMC	FTR	v	+	+	v
4C	L-fenilalanina-AMC	FPH	+	+	+	v
2C	N-succinilo-ALA-PRO-ALA-AMC	FNS	-	-	-	-
1C	ALA-ALA-PHE-AMC	FAA	v	+	v	v
4D	L-ácido glutámico-AMC	FTA	+	-	-	-
2D	L-arginina-AMC	FAR	v	+	v	+
1D	Ornitina-AMC	FOR	-	+	v	-
4E	Glicina-AMC	FGL	+	+	+	+
2E	GLY-PRO-AMC	FGP	-	v	+	-
1E	4MU-β-D-galactósido	FBG	+	+	-	-
4F	Sacarosa	SAC	+	-	-	-
2F	Maltotriosa	MTT	+	-	-	-
1F	Carubinosa	CAR	v	-	-	-
4G	Piranososa	PYO	+	v	-	v
2G	Maltobiososa	MTB	+	v	-	-
1G	Disacárido	DIS	+	-	-	-
4H	Riberol	RBL	v	-	-	-
2H	Levulosa	LEV	+	-	-	-
1H	p-n-p-fosforilcolina	PHC	v	-	-	+
4I	γ-L-glutamilo-p-nitroanilida	GGL	+	-	-	-
2I	p-n-p-fosfato	PHO	+	-	-	+
1I	ONPG	OPG	+	+	-	-
4J	Urea	URE	-	-	-	+
2J	Resazurina	REZ	v	-	v	-
1J	Ornitina	ORN	v	v	v	+

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Reproducibilidad: En un estudio externo realizado en tres laboratorios clínicos (tres evaluaciones en total), se analizó la reproducibilidad de (29) reacciones de los substratos del sistema **BBL Crystal N/H ID** mediante pruebas múltiples. La reproducibilidad de las reacciones de los substratos individuales varió entre 85,7% y 100%. Se determinó que la reproducibilidad general del panel **BBL Crystal N/H ID** era del 95,9%.²²

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

El sistema **BBL Crystal N/H** identificó correctamente 459 (89,5%) de los 513 aislados totales analizados en los tres estudios sin utilizar análisis adicionales e identificó correctamente 480 (93,6%) al incluir análisis adicionales. Un total de 26 (5,1%) aislados fue identificado incorrectamente y se obtuvo un mensaje "Sin identificación" para 7 (1,4%) aislados.²²

DISPONIBILIDAD

Nº de cat.	Descripción	Nº de cat.	Descripción
245130	Equipo BBL Crystal para la identificación de bacterias <i>Neisseria/Haemophilus</i> , con 20 tapas del panel BBL Crystal N/H ID , 20 bases BBL Crystal y 20 tubos con fluido de inóculo BBL Crystal ANR, GP, RGP, N/H ID .	221165	Agar Columbia BBL con 5% de sangre de cordero, paquete de 20.
245038	Fluido de inóculo BBL Crystal ANR, GP, RGP, N/H ID , caja de 10.	221263	Agar Columbia BBL con 5% de sangre de cordero, caja de 100.
245031	Visor para paneles BBL Crystal , modelo USA, 110 V, 60 Hz.	221557	Agar Martin-Lewis BBL , paquete de 20.
245032	Visor para paneles BBL Crystal , modelo europeo, 220 V, 50 Hz.	221558	Agar Martin-Lewis BBL , caja de 100.
245033	Visor para paneles BBL Crystal , modelo japonés, 100 V, 50/60 Hz.	297173	Medio New York City (NYC) BBL modificado, paquete de 20.
245034	Fuente de luz ultravioleta de onda larga para el visor para paneles BBL Crystal .	297801	Agar nutritivo BBL , paquete de 10.
245036	Fuente de luz blanca para el visor para paneles BBL Crystal .	221567	Agar Thayer-Martin BBL , modificado (MTM II), paquete de 20.
245035	Libro de códigos manual para el sistema BBL Crystal para la identificación de bacterias <i>Neisseria/Haemophilus</i> .	221568	Agar Thayer-Martin BBL , modificado (MTM II), caja de 100.
221169	Agar chocolate II BBL (agar GC II con hemoglobina e IsoVitaleX), paquete de 20.	221239	Agar soja Trypticase con 5% de sangre de cordero (TSA II), paquete de 20.
221267	Agar chocolate II BBL (agar GC II con hemoglobina e IsoVitaleX), caja de 100.	221261	Agar soja Trypticase con 5% de sangre de cordero (TSA II), caja de 100.
		221874	Agar V BBL (para <i>G. vaginalis</i>), paquete de 10.
		221875	Agar V BBL (para <i>G. vaginalis</i>), paquete de 100.
		297715	Agar GC-Lect , paquete de 20.
		297928	Agar GC-Lect , caja de 100.
		212539	Equipo BBL de tinción de Gram, paquete de 4 frascos de 250 mL cada uno.

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



Manufacturer / Výrobce / Producent / Fabrikant / Tootja / Valmistaja / Fabricant / Hersteller / Κατασκευαστής / Gyártó / Ditta produttrice / Gamintojas / Product / Fabricante / Výrobca / Tillverkare / Производител / Producător / Üretici / Proizvođač / Производитель / Атқарушы



Use by / Spotřebujte do / Anvendes før / Houdbaar tot / Kasutada enne / Viimeinkäyttöpäivä / A utiliser avant / Verwendbar bis / Ημερομηνία λήξης / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Naudokite iki / Brukes før / Stosować do / Utilizar em / Použítte do / Usar antes de / Använd före / Исполняйте до / Исполняйте до / Uprorijebiti do / Uprorijebiti do /

YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month) /
RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = konec měsíce) /
ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-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 = menses pabaiga) /
ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-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 mesiacu) /
aaaa-mm-dd / aaaa-mm (mm = fin del mes) /
ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutet på månaden) /
ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = края на месеца) /
AAAA-LL-ZZ / AAAA-LL (LL = sfârșitul lunii) /
YYYY-AA-GG / YYYY-AA (AA = ayın sonu) /
GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj meseca) /
ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = конец месяца) /
ЖӨЖӨЖ-АА-КК / ЖӨЖӨЖ-АА (АА = айдың соңы) /
GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj meseca)