

# BD BBL Crystal Identification Systems

## Anaerobe ID Kit

 8809491JAA(02)  
2014-07  
Lietuviai

### SKIRTA NAUDOTI

**BBLCrystal** Anaerobe (ANR) identifikavimo (ID) sistema pagrsta miniatiūrizuota identifikavimo metodika, pagal kurią naudojami modifikuoti tradiciniai, fluorogeniniai ir chromogeniniai substratai. Ji skirta dažnai iš klinikinių bandinių išskiriamu anaerobinių bakterijų identifikacijai.<sup>1-9</sup>

### SANTRAUKA IR PAAI-KINIMAS

Biocheminių mikroorganizmų identifikavimo mikrometodai jau žinomi nuo 1.918 m.<sup>10</sup> Keliose publikacijose minima apie reagentais impregnuotų diskų ir mikromégintuvėlių metodo naudojimą žarnyno bakterijoms diferencijuoti.<sup>10-14</sup> Susidomėjimas miniatiūrizuotomis identifikavimo sistemomis 7-ojo dešimtmecio pabaigoje paskatino keletą komercinių sistemų atsiradimą, ir jų pranašumą lėmė mažos laikymo erdvės poreikis, ilgas galiojimo laikas, standartizuota kokybės kontrolė ir paprastas naudojimas.

Daugelis **BBLCrystal** ID sistemose naudojamų tyrimų yra modifikuoti klasikiniai metodai. Tarp jų yra jvairių substratų fermentacijos, oksidacijos, skaldymo ir hidrolizės reakcijų. Be to, kaip ir **BBLCrystal** ANR identifikavimo panelyje, mikroorganizmams fermentyti, metabolizuojančių jvairius substratus, nustatymui naudojami substratai, žymėti chromogeniais ir fluorogeniais.<sup>12,15-22</sup>

**BBLCrystal** ANR ID rinkinį sudaro: i) **BBLCrystal** ANR ID panelio dangteliai, ii) **BBLCrystal** pagrindai ir iii) mègintuvėliai su **BBLCrystal** anaerobų (ANR), gram (+) (GP), ekspres gram (+)(RGP), neiseriju/hemofilų (N/H) ID inokuliavimo skysčiu (Inoculum Fluid, IF). ID panelio dangtelis ant plastrasinėj strypelių galų yra 29 dehidratuoti substratai ir fluorescencijos kontrolės reagentai. Pagrinde yra 30 reakcijos šulinėlių. Inokuliatas paruošiamas inokuliavimo skystyje ir juo užpildomi visi 30 pagrindo šulinėlių. Kai dangtelis uždedamas ant pagrindo ir uždaromas, tiriamas inokuliatus sudrékina dehidratuotus substratus ir sukelia reakcijas.

Po inkubacijos periodo įvertinamas šulinėlių spalvos pasikeitimas ar fluorescencija, atsirandanti dėl mikroorganizmų metabolismo. Gauti 29 reakcijų rezultatai verčiami į dešimties ženklių profilio numerį, pagal kurį vykdomas tolesnis identifikavimas.<sup>23</sup> Biocheminių ir fermentinių reakcijų su 29 **BBLCrystal** ANR ID substratais profiliai yra saugomi **BBLCrystal** ANR ID duomenų bazėje. Identifikavimas atliekamas lyginant tiriamojo mikrobo reakcijų profilį su duomenų bazėje saugomais profiliais. Visas taksonų sąrašas, esantis dabartinėje duomenų bazėje, pateiktas 1 lentelėje.

### PROCEDŪROS PRINCIPAI

**BBLCrystal** ANR ID panelyje yra 29 dehidratuoti biocheminių ir fermentinių reakcijų substratai. Substratai rehydratuojami bakterijų suspensija inokuliavimo skystyje. –ioje sistemoje mikrobai utilizuoja ir skaldo specifinius substratus, o reakcijos išryškinamos jvairiai indikatoriais. Fluorogeninių substratų, turinčių 4-metilumbeliferoną (4MU) kumarino derivatą, arba 7-amino-4-metilkumarino (7-AMC) fermentinė hidrolizė sukelia fluorescenciją, kurią lengva aptikti vizualiai<sup>15-19</sup> UV šviesoje.<sup>19-21</sup> Jei jvyksta chromogeninių substratų hidrolizė, jie pakeičia spalvą, kurią lengva aptikti vizualiai. Be to, **BBLCrystal** ID sistemoje naudojami ir kiti tyrimai, kurie nustato mikrobo sugebėjimą hidrolizuoti, skaldyti, redukuoti ar kitaip utilizuoti substratą.

Reakcijos, vykstančios su jvairiai substratais, ir trumpas jų principo aprašymas pateikiamas 2 lentelėje. Reakcijos lokalizaciją panelyje lentelėje nurodo raidė ir numeris (pvz., 1J reiškia reakciją 1 eilėje J stulpelyje).

## 1 lentelė.

### BBLCrystal ANR ID sistemos taksonai

#### Gramneigiamos lazdėlės

Tolerantiškos tulžiai	Jautrios tulžiai	Nepigmentuotas,
<i>Bacteroides fragilis</i> grupė	<b>Nepigmentuotas</b>	<b>Idubusios</b>
<i>B. caccae</i>	<i>Prevotella</i>	<i>Bacteroides</i>
<i>B. distasonis</i> grupė <sup>10</sup>	<i>P. bivia</i>	<i>B. ureolyticus</i>
<i>B. eggerthii</i>	<i>P. buccae</i>	<i>Campylobacter</i>
<i>B. fragilis</i>	<i>P. buccalis</i>	<i>C. gracilis</i>
<i>B. ovatus</i>	<i>P. disiens</i>	<i>Fusobacterium</i>
<i>B. stercoris</i>	<i>P. oralis</i>	<i>F. gonodiformans</i> <sup>1,11</sup>
<i>B. thetaiotomicron</i>	<i>P. oris</i>	<i>F. mortiferum</i>
<i>B. uniformis</i>	<i>P. veroralis</i> <sup>11</sup>	<i>F. necrophorum</i>
<i>B. vulgatus</i>	<b>Nepigmentuotas,</b>	<i>F. nucleatum</i>
Kitos:	<b>Nejdubusios</b>	<i>F. russii</i>
<i>B. splanchnicus</i>	<i>Bacteroides</i>	<i>F. varium</i>
<i>Porphyromonas levii</i> <sup>11</sup>	<i>B. capillosus</i>	<i>Leptotrichia</i>
Jautrios tulžiai Pigmentuotas	<i>Tissierella</i>	<i>L. buccalis</i>
<i>Capnocytophaga</i> rūšys	<i>T. praeacuta</i>	
<b>Prevotella</b>	Tolerantiškos tulžiai	
<i>P. corporis</i>	<b>Nepigmentuotas</b>	
<i>P. denticola</i>	<i>Bilophila</i>	
<i>P. intermedia</i>	<i>B. wadsworthia</i>	
<i>P. loescheii</i>	<i>Desulfomonas</i>	
<i>P. melaninogenica</i>	<i>D. pigra</i>	
<b>Porphyromonas</b>	<i>Desulfovibrio</i> rūšys	
<i>P. asaccharolytica</i>	<i>Campylobacter</i>	
<i>P. endodontalis</i>	<i>C. curvus/rectus</i>	
<i>P. gingivalis</i>		

Paaškinimas: 1 = taksonai, esantys BBL Crystal, tik BBL Schaedler duomenų bazėje.

2 = taksonai, esantys tik BBL Crystal, tik BBL Schaedler ir BBL Crystal kitų kraujų agarų duomenų bazėse.

3 = tarp jų *B. distasonis* ir *B. merdae*.

4 = taksonai, turintys <10 unikalinių BBL Crystal profilinių numerių dabartinėje duomenų bazėje.

Clostridia	Gramneigiamos nesporinės lazdėlės	Gramneigiami kokai
<b>Clostridium</b>	<b>Actinomyces</b>	<b>Gemella</b>
<i>C. baratii</i>	<i>A. bovis</i>	<i>G. morbillorum</i>
<i>C. beijerinckii</i>	<i>A. israelii</i>	<b>Peptostreptococcus</b>
<i>C. bif fermentans</i>	<i>A. meyeri</i>	<i>P. anaerobius</i>
<i>C. botulinum</i>	<i>A. naeslundii</i>	<i>P. asaccharolyticus</i>
<i>C. butyricum</i>	<i>A. odontolyticus</i>	<i>P. indolicus</i>
<i>C. cадaveris</i>	<i>A. pyogenes</i>	<i>P. magnus</i>
<i>C. clostridioforme</i>	<i>A. viscosus</i>	<i>P. micros</i>
<i>C. difficile</i>	<b>Atopobium</b>	<i>P. prevottii</i>
<i>C. glycolicum</i>	<i>A. minutum</i>	<i>P. tetradius</i>
<i>C. histiforme</i>	<b>Bifidobacterium</b>	<b>Ruminococcus</b>
<i>C. histolyticum</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>R. productus</i> <sup>11</sup>
<i>C. innocuum</i>	<i>B. dentium</i>	<b>Staphylococcus</b>
<i>C. limosum</i>	<i>B. rūsrys</i>	<i>S. saccharolyticus</i>
<i>C. novyi A</i>	<b>Eubacterium</b>	<b>Streptococcus</b>
<i>C. paraputrificum</i> <sup>11</sup>	<i>E. aerofaciens</i>	<i>S. constellatus</i>
<i>C. perfringens</i>	<i>E. luentum</i>	<i>S. intermedius</i>
<i>C. putrificum</i> <sup>1</sup>	<i>E. limosum</i>	<b>Gramneigiami kokai</b>
<i>C. ramosum</i>	<b>Mobiluncus</b>	<i>Veillonella</i> rūsrys
<i>C. septicum</i>	<i>M. curtisi</i>	
<i>C. sordellii</i>	<i>M. mulieris</i>	
<i>C. sphenoides</i>	<i>M. rūsrys</i> <sup>2,11</sup>	
<i>C. sporogenes</i>	<b>Propionibacterium</b>	
<i>C. subterminale</i>	<i>P. acnes</i>	
<i>C. tertium</i>	<i>P. avidum</i>	
<i>C. tetani</i> <sup>4</sup>	<i>P. granulosum</i> <sup>4</sup>	
	<i>P. propionicus</i>	
	<b>Lactobacillus</b>	
	<i>L. acidophilus</i>	
	<i>L. casei</i>	
	<i>L. catenaformis</i>	
	<i>L. fermentum</i>	
	<i>L. jensenii</i>	
	<i>L. johnsonii</i>	
	<i>L. rhamnosus</i>	

**2 lentelė.**

**BBLCrystal ANR sistemoje naudojamų tyrimų principai**

Viesta panelyje	Tyrimo apibūdinimas	Kodas	Tyrimo principas (metodika)
4A	Neigiamo fluorescencijos kontrolė	FCT	Kontrolė fluorescuojančio substrato rezultatams standartizuoti.
2A	L-arginino-AMC	FAR	Fermentinė amidinės arba glikozidinės jungties hidrolizė atpalaiduoja fluorescuojantį kumarino derivatą. <sup>19-21</sup>
1A	L-histidino-AMC	FHI	
4B	4MU- $\alpha$ -D-manozidas	FAM	
2B	L-serino-AMC	FSE	
1B	L-izoleucino-AMC	FIS	
4C	4MU- $\beta$ -D-manozidas	FBM	
2C	Glicino -AMC	FGL	
1C	L-alanino-AMC	FAL	
4D	4MU-N-acetil- $\beta$ -D-galaktozaminidinas	FGA	
2D	L-piroglutamo rūgštis-AMC	FPY	
1D	L-lizino-AMC	FLY	
4E	L-metionino-AMC	FME	
2E	4MU- $\beta$ -D- celobiopiranozidas	FCE	
1E	4MU- $\beta$ -D-ksilozidas	FXY	
4F	L-fenilalanino-AMC	FPH	
2F	L-leucino-AMC	FLE	
1F	Eskozilis	FSC	Glikozidinės jungties hidrolizė atpalaiduoja nešvytintį eskuletiną. <sup>22</sup>
4G	Disacharidas	DIS	Angliavandenio utilizavimas sumažina pH ir pakeičia indikatoriaus (fenolo raudonio) spalvą. <sup>1,2,11,12</sup>
2G	Furanozė	FUR	
1G	Piranozė	PYO	
4H	p-nitrofenil- $\alpha$ -D-galaktozidas	AGA	Fermentinė bespalvio arilinto glikozido hidrolizė atpalaiduoja geltoną paranitrofenolą. <sup>15-19</sup>
2H	p-nitrofenil- $\beta$ -D-galaktozidas	NPG	
1H	paranitrofenilfosfatas	PHO	
4I	p-nitrofenil- $\alpha$ -D-gliukozidas	AGL	
2I	p-nitrofenil-N-acetil-gliukozaminidinas	NAG	
1I	L-prolin-o-p-nitroanilidas	PRO	Fermentinė bespalvio amidinio substrato hidrolizė atpalaiduoja geltoną paranitroaniliną. <sup>15-19</sup>
4J	p-nitrofenil- $\alpha$ -L-fukozidas	AFU	Fermentinė bespalvio arilinto glikozido hidrolizė atpalaiduoja geltoną paranitrofenolą. <sup>15-19</sup>
2J	p-nitrofenil- $\beta$ -D-gliukozidas	BGL	
1J	L-alanil-L-alanin-p-nitroanilidas	ALA	Fermentinė bespalvio amidinio substrato hidrolizė atpalaiduoja geltoną paranitroaniliną. <sup>15-19</sup>

## Reagentai

BBLCrystal ANR ID panelyje yra 29 dehidratuoti fermentinių ir biocheminių reakcijų substratai. Aktyvioji medžiaga nurodoma toliau pateiktoje lentelėje.

### 3 lentelė.

#### BBLCrystal ANR ID sistemoje naudojami reagentai

Vieta panelyje	Substratas	Kodas	Teigiamo reakcija	Neigiamo reakcija	Aktyvioji medžiaga	Aptykė konc. (g/L)
4A	Neigiamą fluorescencijos kontrolė	FCT	nevertinama	nevertinama	Fluorescuojantis kumarino derivatas	≤ 1
2A	L-arginino-AMC	FAR	Melsva fluorescencija > FCT šulinėlio	Melsva fluorescencija ≤ FCT šulinėlio	L-arginino-AMC	≤ 1
1A	L-histidino-AMC	FHI	Melsva fluorescencija > FCT šulinėlio	Melsva fluorescencija ≤ FCT šulinėlio	L-histidino-AMC	≤ 1
4B	4MU- $\alpha$ -D-manozidas	FAM	Melsva fluorescencija > FCT šulinėlio	Melsva fluorescencija ≤ FCT šulinėlio	4MU- $\alpha$ -D-manozidas	≤ 1
2B	L-serino-AMC	FSE	Melsva fluorescencija > FCT šulinėlio	Melsva fluorescencija ≤ FCT šulinėlio	L-serino-AMC	≤ 1
1B	L-izoleucino-AMC	FIS	Melsva fluorescencija > FCT šulinėlio	Melsva fluorescencija ≤ FCT šulinėlio	L-izoleucino-AMC	≤ 1
4C	4MU- $\beta$ -D-manozidas	FBM	Melsva fluorescencija > FCT šulinėlio	Melsva fluorescencija ≤ FCT šulinėlio	4MU- $\beta$ -D-manozidas	≤ 1
2C	Glicino -AMC	FGL	Melsva fluorescencija > FCT šulinėlio	Melsva fluorescencija ≤ FCT šulinėlio	Glicino -AMC	≤ 1
1C	L-alanino-AMC	FAL	Melsva fluorescencija > FCT šulinėlio	Melsva fluorescencija ≤ FCT šulinėlio	L-alanino-AMC	≤ 1
4D	4MU-N-acetil- $\beta$ -D-galaktozaminidinas	FGA	Melsva fluorescencija > FCT šulinėlio	Melsva fluorescencija ≤ FCT šulinėlio	44MU-N-acetil- $\beta$ -D-galaktozaminidinas	≤ 1
2D	L-piroglutamato rūgšties-AMC	FPY	Melsva fluorescencija > FCT šulinėlio	Melsva fluorescencija ≤ FCT šulinėlio	L-piroglutamato rūgšties-AMC	≤ 1
1D	L-lizino-AMC	FLY	Melsva fluorescencija > FCT šulinėlio	Melsva fluorescencija ≤ FCT šulinėlio	L-lizino-AMC	≤ 1
4E	L-metionino-AMC	FME	Melsva fluorescencija > FCT šulinėlio	Melsva fluorescencija ≤ FCT šulinėlio	L-metionino-AMC	≤ 1
2E	4MU- $\beta$ -D-celobio-piranozidas	FCE	Melsva fluorescencija > FCT šulinėlio	Melsva fluorescencija ≤ FCT šulinėlio	4MU- $\beta$ -D-celobio-piranozidas	≤ 1
1E	4MU- $\beta$ -D-ksilozidas	FXY	Melsva fluorescencija > FCT šulinėlio	Melsva fluorescencija ≤ FCT šulinėlio	4MU- $\beta$ -D-ksilozidas	≤ 1
4F	L-fenilalanino-AMC	FPH	Melsva fluorescencija > FCT šulinėlio	Melsva fluorescencija ≤ FCT šulinėlio	L-fenilalanino-AMC	≤ 1
2F	L-leucino-AMC	FLE	Melsva fluorescencija > FCT šulinėlio	Melsva fluorescencija ≤ FCT šulinėlio	L-leucino-AMC	≤ 1
1F	Eskozilis*	FSC	Melsva/žalia fluorescencija > FCT šulinėlio	Melsva/žalia fluorescencija ≤ FCT šulinėlio	Eskozilis	≤ 1
4G	Disacharidas	DIS	Aukso/geltona	Oranžinė/raudona	Disacharidas	≤ 300
2G	Furanozé	FUR	Aukso/geltona	Oranžinė/raudona	Furanozé	≤ 300
1G	Piranozé	PYO	Aukso/geltona	Oranžinė/raudona	Piranozé	≤ 300
4H	p-n-p- $\alpha$ -D-galaktozidas	AGA	Geltona	Bespalvė	p-n-p- $\alpha$ -D-galaktozidas	≤ 7
2H	p-n-p- $\beta$ -D-galaktozidas	NPG	Geltona	Bespalvė	p-n-p- $\beta$ -D-galaktozidas	≤ 7
1H	p-n-p-fosfatas	PHO	Geltona	Bespalvė	p-n-p-fosfatas	≤ 7
4I	p-n-p- $\alpha$ -D-gliukožidas	AGL	Geltona	Bespalvė	p-n-p- $\alpha$ -D-gliukožidas	≤ 7
2I	p-n-p-N-acetil-gliukožaminidinas	NAG	Geltona	Bespalvė	p-n-p-N-acetil-gliukožaminidinas	≤ 7
1I	L-prolino-p-nitroaniliidas	PRO	Geltona	Bespalvė	L-prolino-p-nitroaniliidas	≤ 7
4J	p-n-p- $\alpha$ -L-fukožidas	AFU	Geltona	Bespalvė	p-n-p- $\alpha$ -L-fukožidas	≤ 7
2J	p-n-p- $\beta$ -D-gliukožidas	BGL	Geltona	Bespalvė	p-n-p- $\beta$ -D-gliukožidas	≤ 7
1J	L-alanil-L-alanin-p-nitroaniliidas	ALA	Geltona	Bespalvė	L-alanil-L-alanin-p-nitroaniliidas	≤ 7

\*Eskozilis fluorescuoja nehidrolizuotas. Jei yra jų skaldantis fermentas, šulinėlio fluorescencija silpnėja.

#### Atsargumo priemonės: *in vitro* diagnostikai

Panaudotas infekcines medžiagas (tarp jų lėkštėles, vatinius tamponus, inokuliato mėgintuvėlius, indolo tyrimui naudotus filtracinius popierėlius, panelius) prieš išmetant arba sudeginant reikia sterilizuoti autoklavė.

## LAIKYMAS IR NAUDΟJIMAS / SANDĒLIAVIMO LAIKAS

**Dangteliai.** Dangteliai yra supakuoti individualiai. Juos saugoti reikia nepažeistejoje pakuotėje saldytuve 2–8 °C temperatūroje. NEUŽ–ALDYTI! Patirkrinkite, ar panelių pakuotėje nėra skylių ir iplýsimų. Nenaudokite, jei pakuotė atrodo pažeista. Laikomi pagal rekomendacijas originalioje pakuotėje dangteliai išlaikys reikiamą reaktyvumą iki galiojimo laiko pabaigos.

**Pagrindai.** Pagrindai supakuoti į du paketus po 10 BBLCrystal inkubacijos loveliuose. Pagrindai sudėti dugnu į viršų, siekiant sumažinti ju išorinį užteršimą. Kai nenaudojate, laikykite maišelius mažai dulkėtoje aplinkoje 2–25 °C temperatūroje. Nepanaudotas pagrindus laikykite lovelyje, idėj į maišeli. Tuščius lovelius galima naudoti paneliams inkubuoti termostate.

**Inokuliavimo skystis.** BBLCrystal ANR, GP, RGP, N/H ID inokuliavimo skystis (IS) supakuotas į du paketus po 10 mėgintuvėlių. Patirkrinkite, ar mėgintuvėliai nepraleidžia skyčio, ar nepažeisti ir t. t. Jei mėgintuvėliai praleidžia skystį, pažeistas mėgintuvėlis ar dangtelis ar yra skyčio užteršimo požymiai (drumstumo, balzganumu), tokio inokuliavimo skyčio nenaudokite. Laikykite inokuliavimo skystį 2–25 °C temperatūroje. Galiojimo data nurodyma ant mėgintuvėlio etiketės. BBLCrystal ANR paneliams naudoti tik BBLCrystal ANR, GP, RGP, N/H inokuliavimo skystį.

Gavę BBLCrystal ANR rinkinį, laikykite jį 2–8 °C temperatūroje. Išpakuoto rinkinio dangtelius laikykite 2–8 °C temperatūroje, o likusius komponentus – 2–25 °C temperatūroje. Jei rinkinys ar jo komponentai laikomi atsaldyti, prieš naudojant juos reikia sušildyti iki kambario temperatūros.

## BANDINIO PAĒMIMAS IR TYRIMAS

**BBLCrystal** ID sistemos nėra skirtos identifikavimui tiesiai iš klinikinio bandinio. Jomis tiriamos terpēs, izoliuotos nuo neselektyvių kraujų agarų terpių, pvz., CDC Anaerobe kraujų agar, Brucella kraujų agar, Columbia kraujų agar arba Schaedler kraujų agar. Tiriama kolonija turi būti gryna ir ne senesnė kaip 24–48 valandų; senesnės kultūras galima naudoti kai kuriems lėtai augantiems kokams (iki 72 val.) ir *Actinomyces* rūšims (72–96 val.). Inokuliavimo suspensijos turi būti ruošiamos tilk vatiniaių tamponėliais, nes dėl kai kurųjų poliesterinių tamponėlių panelio užsėjimas gali sutrūkti. (žr. „Procedūros apribojimai“). Norint užtikrinti adekvaciąs reakcijas, atidarytus dangtelius reikia sunaudoti per 1 valandą. Naudojimo metu plastikinis dangtis turi būti ant panelio dangtelio.

Kad paneliuose esantis inokuliavimo skystis inkubuojant neišgarotų, termostatas turi būti drékinamas. Rekomenduojamas 40–60 % drėgnumas. BBLCrystal ID sistemoms, kaip ir bet kuriai kitai diagnostinei procedūrai su klinikiniuose bandiniuose, tiesioginė itaką turi paties bandinio kokybė. Laboratorijai rekomenduojama naudoti bandinių rinkimo, transportavimo ir pasėjimo į pirminę terpę metodikas, pateiktas *Klinikinės mikrobiologijos vadove (Manual of Clinical Microbiology)*.<sup>1</sup> Kita svarbi literatūra apie anaerobinių bandinių paruošimą yra *Wadsworth anaerobicinės mikrobiologijos vadovas (Wadsworth Anaerobic Bacteriology Manual)*<sup>9</sup> ir *Klinikinės anaerobinės mikrobiologijos principai ir praktika (Principles and Practice of Clinical Anaerobic Bacteriology)*.<sup>3</sup>

## TYRIMO ATLIKIMO METODIKA

### Pateikti reikmenys: BBLCrystal ANR ID rinkinys –

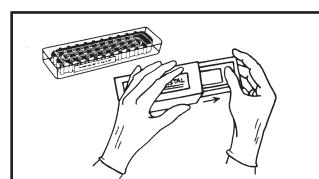
- 20 BBLCrystal Anaerobe ID dangteliai,
- 20 BBLCrystal pagrindų,
- 20 BBLCrystal ANR, GP, RGP, N/H ID inokuliavimo skyčio mėgintuvėlių. Viename mėgintuvėlyje yra apie  $2,3 \pm 0,15$  mL inokuliavimo skyčio, kurio sudėtis tokia: 7,50 g KCl, 0,5 g CaCl<sub>2</sub>, 0,895 g tricin N-[2-hidroksi-1,1-bi (hidroksimetil) metil] glicino, iki 1000 mL purifikuoto vandens.
- 2 inkubavimo loveliai,
- 1 BBLCrystal ANR ID ataskaitos aplankas.

**Nepateikti reikmenys:** steriliūs vatos tamponėliai (*nenaudotū poliesterinių tamponėlių*), ne CO<sub>2</sub> inkubavimo termostatas (35–37 °C, palaikomas drėgnumas 40–60 %), McFarland standartai Nr. 4 ir Nr. 5, BBLCrystal lempa, BBLCrystal ID elektroninė kodų knyga ar BBLCrystal vadovas, BBL DMACA indolo lašintuvai, lékštelių su neselektyviomis terpėmis ir katalazės reagentas.

Taip pat reikalinos ijrastinės laboratorijos priemonės ir indai, naudojami klinikiniams bandiniams ruošti, saugoti ir tirti.

**Tyrimo metodika.** BBLCrystal ANR ID sistemai reikalingas tepinėlio įvertinimo pagal Gramo dažymą, indolo ir katalazės testų rezultatai. Prieš užsėjant panelį reikia atlikti katalazės ir indolo tyrimus. Indolo tyrimą atlikite vadovaudamiesi su reagento pateikta instrukcija. Katalazės tyrimui rekomenduojamas 15,0 % vandenilio peroksido ir tirpalas su 1,0 % Tween 80.<sup>9,24</sup>

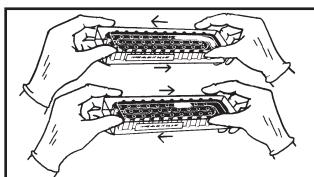
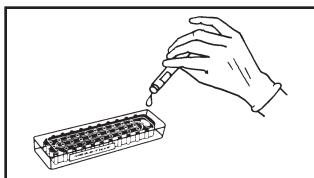
1. Dangtelius ištraukite iš maišelio. Išmeskite sausiklį. Pašalinkt iš maišelio dangtelį reikia panaudoti per 1 val. Panelio, kurio maišelyje nėra sausiklio, naudoti negalima.
2. Paimkite mėgintuvėlių iš inokuliavimo skyčiu ir pažymėkite ant jo paciento bandinio numerį. Aseptiškai paimkite iš vienos iš rekomenduojamų terpių (žr. „Bandinio paēmimas ir tyrimas“) vienodos morfologijos kolonijų steriliū vatos tamponėliu (*nenaudokite poliesterinio tampono*) arba mediniu aplikatoriumi.
3. Padarykite kolonijų suspensiją mėgintuvėlyje su BBLCrystal ANR, GP, RGP, N/H ID inokuliavimo skyčiu.
4. Uždarykite mėgintuvėlį ir maždaug 10–15 sekundžių pakratykite. Suspensijos drumstumas turi atitikti McFarland standartą Nr. 4 (neturi viršyti standarto Nr. 5 pagal McFarlandą). Jei suspensijos drumstumas yra didesnis nei rekomenduojamas McFarlando standartas, patariama imtis šių priemonių:
  - a. Paimkite naujų inokuliavimo skyčio mėgintuvėlį ir pagaminkite naujų inokuliavimo suspensiją pagal McFarland standartą Nr. 4.



- b. Jei neliko tiriamos kultūros kolonijų ir naujos suspensijos pagaminti negalima, naudodami aseptinę techniką praskieskite suspensiją minimaliu kiekiu (ne daugiau kaip 1,0 mL) 0,85 % sterila fiziologinio tirpalio arba inokuliavimo skysčiu, kad drumstumas sumažėtų iki 4 pagal McFarlandą. Skysčio perteklių pašalinkite sterilia pipete taip, kad mėgintuvėlyje liktų pradinis suspensijos tūris ( $2,3 \pm 0,15$  mL). Jei tai nebus padaryta, suspensija išsilies per pagrindo kraštus ir panelio nebus galima naudoti.
5. Paimkite pagrindą ir ant šono pažymėkite paciento bandinio numerį.  
 6. Supilkite visą inokuliatą į tam skirtą pagrindo vietą.

7. Laikydami pagrindą abiem rankom švelniai paskirstykite inokuliata po griovelį, kad užspildytų visi jame esantys šulinėliai. Skysčio perteklių grąžinkite atgal į pradinę vietą, kur jis buvo išpiltas, ir padékite pagrindą ant stalo. Kadangi **BBLCrystal ANR ID** paneleyje naudojama didelė ląstelių koncentracija, inokuliatas iš lėto turi būti paskirstytas taip, kad užpildytų visus šulinėlius. Prieš uždėdami dangtelį įsitikinkite, kad tarp šulinėlių nėra inokuliato.

8. Uždékite dangtelį taip, kad galas su etikete atsidurtų virš pagrinde esančios inokuliato įpymimo vietas.



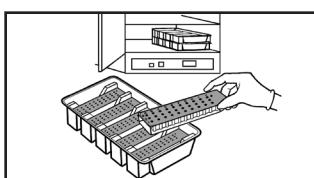
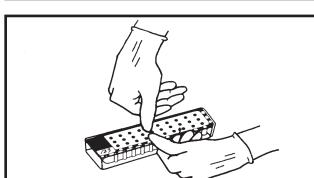
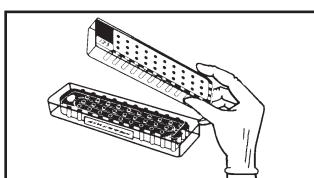
9. Stumtelėkite dangtelį, kol pajusite silpną pasiprirešinimą. Abiem nykščiais paspauskite dangtelį per vidurį iš šonų vienu metu taip, kad jis atsidurtų jam skirtoje vietoje (turi pasigirsti 2 trakštelėjimai).

**Kolonijos grynumo ląkštėlė.** Kolonijos grynumo kontrolei atliki sterilia kilpele paimkite nedidelį lašą inokuliato iš mėgintuvėlio prieš užsėjimą į pagrindą arba po to ir pasékite jį bet kokios neselektyvios terpės (nuožulnus agaras arba lękštėlės). Mėgintuvėlių nuo inokuliato su kamšteliu išmeskite į biologiškai pavojingų atliekų konteinerį. Nuožulnus agaras arba lękštėlę inkubuokite 24–48 val. 35–37 °C anaerobiniems sąlygomis.

Jei reikia, kolonijas, išaugusias ant nuožulnus agaros arba lękštėlės, galima panaudoti atliekant bet kokius papildomus tyrimus ar serologinius tyrimus.

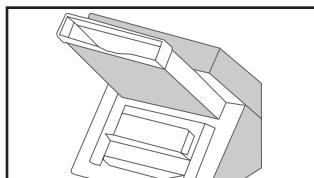
**Inkubavimas.** Inokuliuotus panelius sudėkite į inkubacijos lovelius. I vieną lovelį telpa dešimt (dvieilės po penkis) panelių. Visi paneliai turi būti inkubuojami **apversti** (didesnių langeliais į viršų, etikete žemyn) ant **BBLCrystal** šviesos šaltinio. 40–60 % **drėgnumo** inkubatoriuje. Lovelių negalima sudėti daugiau nei dviej aukštais. Panelio inkubavimo laikas 35–37 °C temperatūroje yra **4 val.**

**PASTABA:** inkubavimo metu kuo rečiau atidarinėkite inkubatoriaus duris (ne daugiau kaip 3 kartus).



**Rezultatų įvertinimas.** Praėjus rekomenduojamam inkubavimo laikui ištraukite panelius iš inkubatoriaus. Visi paneliai turi būti vertinami apversti (didesnių langeliais į viršų, etikete žemyn) ant **BBLCrystal** šviesos šaltinio. Reakcijų interpretavimui naudokite spalvinų reakcijų interpretavimo lentelę ir (arba) 3 lentelę. Reakcijų duomenis išrašykite į **BBLCrystal ANR** rezultatų aplanką.

- Pirmiausia dienos (baltoje) šviesoje įvertinkite stulpelius nuo G iki J.
- Po to šviesos šaltinio UV šviesoje vertinkite stulpelius su fluorescuojančiais substratais nuo A iki F –ulinėlis su fluorescuojančiu substratu laikomas teigiamu *tik tokiai atveju*, jei stebima fluorescencija yra intensyvesnė negu neigiamos kontrolės (4A) šulinėlyje.



**BBLCrystal profilinio numerio apskaičiavimas.** Kiekvieno tyrimo rezultatas (išskyrus 4A, kuris naudojamas neigiamai fluorescencijos kontrolei), atsižvelgiant į tai, kurioje eilėje jis yra, turi tam tikrą balų skaičių: 4, 2 arba 1. Bet kuri neigiamo reakcija vertinama 0 (nuliui) balų. Balai, kuriais įvertinamos reakcijos, kiekviename stulpelyje sudedami. Gaunamas 10 skaitmenų numeris, kuris ir yra profilinis numeris.

Pavyzdys.	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4	*	+	-	-	+	+	+	-	+	-
2	-	+	+	+	-	+	-	+	+	-
1	+	-	+	-	+	-	-	+	+	-
Profilis	1	6	3	2	5	6	4	3	7	0

\*(4A) = neigiamą fluorescencijos kontrolę.

**Įš siūlomų BBL Crystal anaerobų duomenų bazią pasirinkite tinkamą duomenų bazę. Tinkamą duomenų bazę išsiirkite pagal inokuliato ruošimui naudotas lekštėles. Jei buvo naudojami Brucella arba Columbia kraujų agarai, reikia pasirinkti alternatyviųjų kraujų agarų duomenų bazę.**

Gautas profilinis numeris ir sūltinio teste (Gramtepienėlio, indolo ir katalazės) rezultatai turi būti išrašomi į kompiuterį, kuriamo įdiegta **BBL Crystal ID** sistemos elektroninės kodų knygos programa, ir mikroorganizmas bus identifikuotas. Galima naudotis ir kodų knyga. Jei kompiuteriu naudotis negalite, pagalbos identifikuoant kreipkitės į BD Diagnostics techninės pagalbos tarnybą.

**Naudotojo atlikama kokybės kontrolė.** Kiekvienai panelių serijai rekomenduojama atliskti kokybės kontrolės procedūras šia tvarka:

1. Užsėkite panelį *Bacteroides fragilis* ATCC 25285 kultūra taip, kaip nurodoma procedūros aprašyme (žr. „Tyrimo atlikimo metodiką“).
2. Pries inkubavimą leiskite paneliui pabūti kambario temperatūroje apie 1 min. (bet ne ilgiau kaip 2 min.).
3. Įvertinkite ir užrašykite reakcijų rezultatus naudodamiesi šviesos šaltinio ir spalvinų reakcijų interpretavimo lentele.
4. Jei nors vienas iš šulinelių (išskyrus 1F) rodo teigiamą spalvos reakciją (praėjus 1–2 min.), šios serijos PANELIŲ NENAUDOKITE. Kreipkitės į BD Diagnostics techninės pagalbos tarnybą. (PASTABA: 1F šulinėlis [eskoziliis] po rehidratacijos turi atrodyti kaip teigiamą reakciją).
5. Jei visi šulinėliai rodo neigiamą reakciją, inkubuokite panelį 4 val. 35–37 °C temperatūroje.
6. Reakcijų rezultatus įvertinkite naudodamiesi šviesos šaltinio ir spalvinų reakcijų interpretavimo lentele, rezultatus užrašykite į rezultatų aplanką.
7. Gautus rezultatus palyginkite su 4 lentelėje pateiktais rezultatais. Jei rezultatai skiriasi, prieš kreipdamiesi į BD Diagnostics techninės pagalbos tarnybą įsitikinkite kontrolinės kultūros grynumu.
8. Inkubavimo metu kuo rečiau atidarinėkite inkubatoriaus duris (ne daugiau kaip 3 kartus).

Papildomai tiriamų kultūrų kokybės kontrolės rezultatai pateikiami 5 lentelėje.

#### PROCEDŪROS APRIBOJIMAI

**BBLCrystal ANR ID** sistema yra surukta išvardytiems mikrobų taksonams. – i sistema nenumatyta naudoti su 1 lentelėje nenurodytomis taksonų grupėmis.

Visos **BBLCrystal ANR ID** duomenų bazės surukta naudojant **BBL terpes**. Tam tikrų substratų reaktyvumas greitose identifikavimo sistemose priklauso nuo inokuliaciavimui naudojamos terpės šaltinio. Mes patariame su **BBLCrystal ANR ID** sistema naudoti šias **BBL** terpes: CDC Anaerobe kraujų agarą, Schaedler kraujų agarą su Vitamina K<sub>1</sub> ir 5 % avies krauju, Columbia kraujų agarą su 5 % avies krauju ir *Brucella* kraujų agarą su vitamina K<sub>1</sub> ir heminu (žr. „Galimybė užsakyti“).

**BBLCrystal** identifikavimo sistemoje susidaro modifiuota mikroaplinka, todėl įvairių individualių tyrimų rezultatai gali skirtis nuo tuo, kurie buvo gaunami įprastinių tyrimų reakcijų metu. **BBLCrystal ANR ID** sistemos tikslumas pagrįstas specialiai tam skirtų tyrimų statistiniu apdorojimu ir išskirtine duomenų baze.

Nors **BBLCrystal ANR ID** sistema padeda diferencijuoti mikrobus, reikia pripažinti, kad rūšių viduje gali būti nedidelės variacijos. Naudoti panelius ir interpretuoti rezultatus gali tik kompetentingas mikrobiologas. Galutinė mikrobo identifikacija turi būti atlikta atsižvelgiant į bandinio šaltinį, aerotoleranciją, mikrobo morfologiją, kolonijos nuo skirtų terpių charakteristikas, taip pat, esant reikalui, pagal galinius medžiagų apykaitos produktus, nustatomus duju ir skygio chromatografu.

## 4 lentelė.

### BBLCrystal ANR ID sistemos kokybės kontrolės lentelė\*

Vieta panelyje	Substratas	Kodas	<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285
4A	Neigiamo fluorescencijos kontrolė	FCT	–
2A	L-arginino-AMC	FAR	V
1A	L-histidino-AMC	FHI	–
4B	4MU- $\alpha$ -D-manozidas	FAM	V <sup>1</sup>
2B	L-serino-AMC	FSE	–
1B	L-isoleucino-AMC	FIS	–
4C	4MU- $\beta$ -D-manozidas	FBM	+
2C	Glicino-AMC	FGL	–
1C	L-alanino-AMC	FAL	V
4D	4MU-N-acetil- $\beta$ -D-galaktozaminidinas	FGA	+
2D	L-piroglutamino rūgštės-AMC	FPY	V <sup>1,11</sup>
1D	L-lizino-AMC	FLY	V
4E	L-metionino-AMC	FME	V
2E	4MU- $\beta$ -D- celobiopiranozidas	FCE	+
1E	4MU- $\beta$ -D-ksilozidas	FXY	V <sup>1</sup>
4F	L-fenilalanino-AMC	FPH	V
2F	L-leucino-AMC	FLE	+
1F	Eskozilis	FSC	– <sub>3,4,10</sub>
4G	Disacharidas	DIS	+
2G	Furanozé	FUR	+
1G	Piranozé	PYO	+ <sup>1</sup>
4H	p-n-p- $\alpha$ -D-galaktozidas	AGA	+
2H	p-n-p- $\beta$ -D-galaktozidas	NPG	+
1H	p-n-p-fosfatas	PHO	+
4I	p-n-p- $\alpha$ -D-gliukozidas	AGL	+
2I	p-n-p-N-acetil-gliukozaminidinas	NAG	+
1I	L-prolinio-p-nitroaniliidas	PRO	–
4J	p-n-p- $\alpha$ -L-fukožidas	AFU	+
2J	p-n-p- $\beta$ -D-gliukozidas	BGL	+
1J	L-alanil-L-alanin-p-nitroaniliidas	ALA	+

1 = neigiamo nuo BBL Schaedler agaru

6 = galinti kisti nuo BBL Brucella agaru

2 = teigiamo nuo BBL Schaedler agaru

7 = neigiamo nuo BBL Columbia agaru

3 = galinti kisti nuo BBL Schaedler agaru

8 = teigiamo nuo BBL Columbia agaru

4 = neigiamo nuo BBL Brucella agaru

9 = galinti kisti nuo BBL Columbia agaru

5 = teigiamo nuo BBL Brucella agaru

## 5 lentelė.

### BBLCrystal ANR ID sistemos papildomos kokybės kontrolės lentelė

Vieta panelyje	Substratas	Kodas	<i>Bacteroides distasonis</i> ATCC 8503	<i>Peptostreptococcus asaccharolyticus</i> ATCC 29743	<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 314	<i>Fusobacterium varium</i> ATCC 27725
4A	Neigiamo fluorescencijos kontrolė	FCT	–	–	–	–
2A	L-arginino-AMC	FAR	+	+	+	– <sub>4,10</sub>
1A	L-histidino-AMC	FHI	V	+	+ <sup>3</sup>	–
4B	4MU- $\alpha$ -D-manozidas	FAM	+	–	–	–
2B	L-serino-AMC	FSE	–	–	+ <sup>3</sup>	–
1B	L-isoleucino-AMC	FIS	– <sub>4</sub>	–	+	–
4C	4MU- $\beta$ -D-manozidas	FBM	+ <sup>10</sup>	–	–	–
2C	Glicino-AMC	FGL	V <sub>1,12</sub>	V <sup>1</sup>	V <sup>2</sup>	–
1C	L-alanino-AMC	FAL	+	V <sup>1</sup>	+	–
4D	4MU-N-acetil- $\beta$ -D- galaktozaminidinas	FGA	+	–	–	–
2D	L-piroglutamino rūgštės-AMC	FPY	V <sub>1,12</sub>	–	V <sup>11,24</sup>	+
1D	L-lizino-AMC	FLY	V <sub>2,12,15</sub>	+	+	–
4E	L-metionino-AMC	FME	+	+ <sup>4,10</sup>	+	V
2E	4MU- $\beta$ -D- celobiopiranozidas	FCE	V <sub>12</sub>	–	+	–
1E	4MU- $\beta$ -D-ksilozidas	FXY	+ <sup>10</sup>	–	–	–
4F	L-fenilalanino-AMC	FPH	V <sub>12</sub>	V	+	–
2F	L-leucino-AMC	FLE	+	+ <sup>10</sup>	+	V
1F	Eskozilis	FSC	V	V <sub>2,15</sub>	– <sub>3,4,10</sub>	V <sub>15</sub>
4G	Disacharidas	DIS	+	–	+ <sub>3,10,24</sub>	–
2G	Furanozé	FUR	+	–	+	V
1G	Piranozé	PYO	+	–	+ <sup>10</sup>	+
4H	p-n-p- $\alpha$ -D-galaktozidas	AGA	+	–	+ <sub>3,4,10</sub>	–
2H	p-n-p- $\beta$ -D-galaktozidas	NPG	+	–	+ <sub>3,4,10</sub>	–
1H	p-n-p-fosfatas	PHO	+	–	–	–
4I	p-n-p- $\alpha$ -D-gliukozidas	AGL	+	–	V <sup>1</sup>	–
2I	p-n-p-N-acetil-gliukozaminidinas	NAG	+	–	V <sub>12,15</sub>	–
1I	L-prolinio-p-nitroaniliidas	PRO	–	–	V	–
4J	p-n-p- $\alpha$ -L-fukožidas	AFU	–	–	–	–
2J	p-n-p- $\beta$ -D-gliukozidas	BGL	+	–	+	–
1J	L-alanil-L-alanin-p-nitroaniliidas	ALA	+	–	V	–

\*Tiketini rezultatai, naudojant BBL CDC Anaerobe agarą su 5 % avies krauju.

Inokuliavimo suspensijos turi būti ruošiamos tik vatos tamponėliais, mediniu aplikatoriumi arba vienkartine plastikine kilpele, nes kai kurių poliesterinių tamponėlių naudojimas gali padidinti inokuliato klampumą. Dėl to šulinėliams užpildyti gali pritrūkti inokuliavimo skyčio. Norint užtikrinti adekvačias reakcijas, atidarytus dangtelius reikia sunaudoti per 1 valandą. Naudojimo metu plastikinis dangtis turi būti ant panelio dangtelio.

Inkubatorius turi būti drékinamas, kad iš šulinėlių inkubavimo metu neišgaruotų skystis. Rekomenduojamas 40–60 % drégnumas.

Kad substratai būtų maksimaliai efektyvūs, po inokuliavimo paneliai turi būti inkubuojami tik **apversti** (didesnais langeliais) j virš, etikete žemyn).

Kolonijos turi būti tiriamos nuo **neselektyvių** agarų, kaip antai: **BBL CDC Anaerobe, Brucella, Columbia ir Schaedler krauso agarų** (žr. „Galimybė užsakyti“).

Jei tiriant **BBLCrystal** profilinis numeris rodo identifikavimo nebuvinį, ir buvo įrodytas kultūros grynumas, gali būti, kad: i) tiriamą koloniją duoda **atipinias BBLCrystal** sistemai rezultatus (galimas procedūrių pažeidimų padarinys), ii) tiriamą kultūrą nepriklauso panelio taksonomijai arba iii) šia sistema identifikuoti tiriamos kultūros pakankamu patikimumo lygiu neįmanoma. Atmetus naudojimo klaidas identifikavimą reikėtų testi įprastais metodais.

## VEIKIMO CHARAKTERISTIKOS

**Rezultatų atkuriamumas.** Išorinio tyrimo keturiose klinikinėse laboratorijose (iš viso penki įvertinimai) metu buvo tiriamas **BBLCrystal ANR ID** substratu (29) reakcijų atkartojamumas replikuoto tyrimo būdu. Individualiu substratu reakcijų atkartojamumas svyrauto nuo 96,2 % iki 100 %. Buvo nustatyta, kad bendras **BBLCrystal ANR** panelio atkartojamumas yra lygus 99,1 %.<sup>25</sup>

**Identifikacijos tikslumas.** Naudojant iš klinikinių tyrimų vietų išskirtas grynašias kultūras ir standartines kultūras, **BBLCrystal ANR ID** sistema buvo palyginta su šiuo metu naudojamomis komercinėmis sistemomis, taip pat su įprastiniais referenciniais identifikavimo metodais, rekomenduojamais VA Wadsworth laboratorijos. Buvo atlikti penki tyrimai keturiose nepriklausomose laboratorijose. Vertinant veikimo charakteristikas buvo tiriami į klinikines laboratorijas įprastu būdu patenkančius bandiniais, taip pat iš anksto identifikuoti mikrobų izoliatai iš klinikinių tyrimų vietų.

Penkių tyrimų metu iš tirtų 633 izoliatų 588 (93 %) buvo identifikuoti teisingai (tarp jų buvo atveju, kuriems prireikė papildomo tyrimo iki galutinio identifikavimo) **BBLCrystal ANR** identifikacijos sistema. Neteisingai buvo identifikuoti 36 (6 %) izoliatai, o neidentifikuoti liko 9 (1 %) izoliatai.<sup>25</sup>

## GALIMYBĖ UŽSAKYTI

Kat. Nr.	Apaščias	Kat. Nr.	Apaščias
245010	<b>BBLCrystal Anaerobe ID Kit</b> , kuriame yra po 20: <b>BBLCrystal Anaerobe ID Panel Lids</b> , <b>BBLCrystal Bases</b> and <b>BBLCrystal Anaerobe ID Inoculum Fluid</b> .	221734	<b>BBL CDC Anaerobe Blood Agar with 5% Sheep Blood</b> , dėž. yra 100 vnt.
245038	<b>BBLCrystal ANR, GP, RGP, N/H ID Inoculum Fluid</b> , dėž. yra 10 vnt.	221539	<b>BBL Schaedler Agar with Vitamin K<sub>1</sub> and 5% Sheep Blood</b> , pakuočėje yra 20 vnt.
245031	<b>BBLCrystal Panel Viewer</b> , amerikinis modelis, 110 V, 60 Hz.	221165	<b>BBL Columbia Agar with 5% Sheep Blood</b> , pakuočėje yra 20 vnt.
245032	<b>BBLCrystal Panel Viewer</b> , europinis modelis, 220 V, 50 Hz.	221263	<b>BBL Columbia Agar with 5% Sheep Blood</b> , dėž. yra 100 vnt.
245033	<b>BBLCrystal Panel Viewer</b> , japoniškasis modelis, 100 V, 50/60 Hz.	297848	<b>BBL Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K<sub>1</sub></b> , pakuočėje yra 20 vnt.
245034	<b>BBLCrystal Panel Viewer Longwave UV Tube</b> .	297716	<b>BBL Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K<sub>1</sub></b> , dėž. yra 100 vnt.
245036	<b>BBLCrystal Panel Viewer White Light Tube</b> .	261187	<b>BBL DMACA Indole Reagent Droppers</b> , dėž. yra 50 vnt.
245011	<b>BBLCrystal Identification Systems Anaerobe Manual Codebook</b> .	212539	<b>BBL Gram Stain Kit</b> , pakuočėje 4 x 250 mL buteliukai.
221733	<b>BBL CDC Anaerobe Blood Agar with 5% Sheep Blood</b> , pakuočėje yra 20 vnt.		

## LITERATŪRA

1. Balows, A., W.J. Hausler, Jr., K.L. Herrmann, H.D. Isenberg, and H.J. Shadomy (ed.). 1991. Manual of clinical microbiology, 5th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
2. Baron, E.J., and S.M. Finegold. 1990. Bailey and Scott's diagnostic microbiology, 8th ed. The C.V. Mosby Company, St. Louis.
3. Engelkirk, P.G., J. Duben-Engelkirk, and V.R. Dowell, Jr. (ed.). 1992. Principles and practice of clinical anaerobic bacteriology. Star Publishing Company, Belmont, Calif.
4. Holdeman, L.V., E.P. Cato and W.E.C. Moore. 1977. Anaerobe laboratory manual, 4th edition. Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg.
5. Holdeman, L.V., E.P. Cato and W.E.C. Moore. 1987. Anaerobe laboratory manual update. Supplement to the 4th edition. Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg.
6. Holdeman, L.V., E.P. Cato and W.E.C. Moore. 1993. Anaerobe laboratory manual update. Supplement to the 4th edition. Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg.
7. Mandell, G.L., R.G. Douglas, Jr. and J.E. Bennett. 1990. Principles and practice of infectious diseases, 3rd ed. Churchill Livingstone Inc., New York.
8. Rodloff, A.C., P.C. Appelbaum, and R.J. Zabransky. 1991. Cumitech 5A, Practical anaerobic bacteriology, Coordinating ed., A.C. Rodloff. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Summanen, P., E.J. Barron, D.M. Citron, C.A. Strong; H.M. Wexler, and S.M. Finegold. 1993. Wadsworth anaerobic bacteriology manual, 5th ed. Star Publishing Company, Belmont, Calif.
10. Bronfenbrenner, J., and M.J. Schlesinger. 1918. A rapid method for the identification of bacteria fermenting carbohydrates. Am. J. Public Health. 8:922-923.
11. Cowan, S.T., and K.J. Steel. 1974. Manual for the identification of medical bacteria. 2nd ed. Cambridge University Press, Cambridge.
12. Hartman, P.A. 1968. Miniaturized microbiological methods. Academic Press, New York.
13. Sanders, A.C., J.E. Faber, and T.M. Cook. 1957. A rapid method for the characterization of enteric pathogen using paper discs. Appl. Microbiol. 5:36-40.
14. Soto, O.B. 1949. Fermentation reactions with dried paper discs containing carbohydrate and indicator. Puerto Rican J. Public Health. Trop. Med. :96-100.
15. Edberg, S.C., and C.M. Kontnick. 1986. Comparison of *b*-glucuronidase-based substrate systems for identification of *Escherichia coli*. J. Clin. Microbiol. 24:368-371.
16. Kämpfer, P., O. Rauhoff, and W. Dott. 1991. Glycosidase profiles of members of the family *Enterobacteriaceae*. J. Clin. Microbiol. 29:2877-2879.
17. Kilian, M., and P. Bulow. 1976. Rapid diagnosis of *Enterobacteriaceae* 1: detection of bacterial glycosidases. Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sect. B. 84:245-251.
18. Maddocks, J.L., and M. Greenan. 1975. Rapid method for identifying bacterial enzymes. J. Clin. Pathol. 28:686-687.
19. Manafi, M., W. Kneifel, and S. Bascomb. 1991. Fluorogenic and chromogenic substrates used in bacterial diagnostics. Microbiol. Rev. 55:335-348.
20. Mangels, J., I. Edvalson, and M. Cox. 1993. Rapid Identification of *Bacteroides fragilis* group organisms with the use of 4-methylumbelliflerone derivative substrates. Clin. Infect. Dis. 16(54):5319-5321.
21. Moncla, B.J., P. Braham, L.K. Rabe, and S. L. Hiller. 1991. Rapid presumptive identification of black-pigmented gram-negative anaerobic bacteria by using 4-methylumbelliflerone derivatives. J. Clin. Microbiol. 29:1955-1958.
22. Qadri, S.M., and S. Johnson. 1981. Rapid test for esculin hydrolysis by anaerobic bacteria. Antonie van Leeuwenhoek 47:371-379.
23. Sneath, P.H.A. 1957. The application of computers to taxonomy. J. Gen. Microbiol. 17:201-221.
24. Hansen, S.L., and B.J. Stewart. 1978. Slide catalase. A reliable test for differentiation and presumptive identification of certain clinically significant anaerobes. Am. J. Clin. Microbiol. 13:444-448.
25. Data on file at BD Diagnostics.

Techninis aptarnavimas ir palaikymas iš „BD Diagnostics“: kreipkitės į vietinį BD atstovą.



Manufacturer / Производител / Výrobce / Fabrikant / Hersteller / Κατασκευαστής / Fabricante / Tootja / Fabricant / Proizvodčač / Gyártó / Fabricante / Atkārušys / Gamtojas / Ražotājs / Tilvirk / Producent / Producător / Производитель / Výrobca / Proizvodač / Tillverkare / Üretici / Виробник



Use by / Использайте до / Spotrebujte do / Brug fôr / Verwendbar bis / Χρηση έως / Usar antes de / Kasutada enne / Date de péremption / Uпотребите до / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Дейн пайдалануға / Naudokite iki Izlietot līdz / Houdbaat tot / Brukes for / Stosować do / Prazo de validade / A se utiliza până la / Использовать до / Použíte do / Upotrebiti do / Använd för / Son kullanma tarihi / Використати дотиине YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month)  
 ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = края на месецца)  
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = konec měsíce)  
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = slutning af måned)  
 JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende)  
 EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα)  
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fin del mes)  
 AAAA-KK-PP / AAAA-KK (KK = kuu läopp)  
 AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois)  
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj mjeseca)  
 ÉÉÉÉ-HH-NN / ÉÉÉÉ-HH (HH = hónap utolsó napja)  
 AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese)  
 Жоқокк-АА-КК / Жоқокк-АА / (АА = айдын соны)  
 ММММ-MM-DD / ММММ-MM (MM = мěněsia pabaga)  
 GGGG-MM-DD/GGGG-MM (MM = mēneša beigas)  
 JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand)  
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = slutten av månedan)  
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)  
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês)  
 AAAA-LZ\_ZZ / AAAA-LZ (LZ = sfârșitul lunii)  
 ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = конец месяца)  
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec mesiaca)  
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj meseca)  
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = slutet av månaden)  
 YYYY-AA-GG / YYYY-AA (AA = ayin sonu)  
 PPPP-MM-ДД / PPPP-MM (MM = кінець місяця)



Catalog number / Каталожен номер / Katalogové číslo / Katalognummer / Αριθμός καταλόγου / Número de catálogo / Katalooginumber / Numéro catalogue / Kataloški broj / Katalógusszám / Numero di catalogo / Katalog němíř / Katalogo numeris / Katalogu numurs / Catalogus nummer / Numer katalogowy / Număr de catalog / Номер по каталогу / Katalógové číslo / Kataloški broj / Katalog numarası / Номер за каталогом



Authorized Representative in the European Community / Оторизиран представител в Европейската общност / Autorizovaný zástupce pro Evropském společenství / Autoriseret repræsentant i De Europæiske Fællesskaber / Autorisierten Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft / Εξουιοδοποιένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Volitatid esindaja Euroopa Nõukogus / Représentant autorisé pour la Communauté européenne / Autorizuirani predstavnik u Evropskoj uniji / Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségen / Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea / Европа кауымдастырындың уәкілетті екін / Igaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / Pilnvarotais pārstāvis Eiropas Kopienā / Bevoegde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap / Autorisert representant i EU / Autoryzowane przedstawicielstwo we Wspólnocie Europejskiej / Representante autorizado na Comunidade Europeia / Representant autorizat pentru Comunitatea Europeană / Уполномоченный представитель в Европейском сообществе / Autorizovaný zástupca v Evropskom spoločenstve / Autorizovaný predstavništvo v Evropskej unii / Auktoriseraad representant i Europeiska gemenskapen / Avrupa Topluluğu Yetkilisi Temsilcisi / Уновожданый представник в краинах СС



In Vitro Diagnostic Medical Device / Медицински уред за диагностика ин витро / Lékařské zařízení určené pro diagnostiku in vitro / In vitro diagnostisk medicinsk anordning / Medizinisches In-vitro-Diagnoskitum / In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / In vitro diagnostika meditsinskiy aparaturu / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medicinska pomagala za In Vitro Dijagnostiku / In vitro diagnostikai orvosi eszköz / Dispositivo medicale per diagnostica in vitro / Жасанды жағдайда жүргізілген медициналық диагностика аспабы / In vitro diagnostikos přístrojaias / Medicinas iesrices, ко lieto in vitro diagnostikā / Medisch hulpmiddel voor in-vitro diagnostiek / In vitro diagnostisk medisinsk ustyr / Urzadzenie medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Dispositivt medical pentru diagnostic in vitro / Медицинский прибор для диагностики in vitro / Medicinska pomôcka na diagnostiku in vitro / Klinikski uredaj za in vitro diagnostiku / Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik / In Vitro Diagnostik Tibbi Cihaz / Медицински пристрой для диагностики in vitro



Temperature limitation / Температурни ограничения / Teplotní omezení / Temperaturbegrennsning / Temperaturbegrenzung / Περιορισμό θερμοκρασίας / Limitación de temperatura / Temperatuuri piirang / Limites de température / Dozvoljena temperatura / Hörmésekelt határ / Limiti di temperatura / Температурныи шектеу / Laikymo temperatūra / Temperatūras ierobežojumi / Temperaturlimits / Temperaturbegrensning / Ограничение температуры / Limites de temperatura / Limite de temperatūra / Ограничение температуры / Ohraničenie teploty / Ограничение температура / Temperaturgräns / Sicaklık sınırlaması / Обмеження температури



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



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



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



Benex Limited  
Pottery Road Laoghaire  
Co. Dublin, Ireland

Tween is a trademark of ICI Americas, Inc.

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

BD, BD Logo, BBL and BBL Crystal are trademarks of Becton, Dickinson and Company. ©2014 BD