

BD BBL Crystal Identification System

Anaerobe ID Kit

 8809491JAA(02)
2014-07
Polski

ZASTOSOWANIE

System identyfikacyjny (ID) **BBL Crystal Anaerobe (ANR)** jest zminiaturyzowanym testem, opartym na wykorzystaniu zmodyfikowanych substratów: konwencjonalnych, fluoro- i chromogenicznych. Jest wykorzystywany do identyfikacji często izolowanych bakterii beztlenowych¹⁻⁹.

STRESZCZENIE I OBJAŚNIENIE

Pierwsze informacje o mikrometodach służących do biochemicznej identyfikacji drobnoustrojów pochodzą z 1918 roku¹⁰. W kilku publikacjach donoszono o zastosowaniu impregnowanych odczynnikami kraczków papierowych oraz metod wykorzystujących mikroprobówki do różnicowania bakterii jelitowych¹⁰⁻¹⁴. Zainteresowanie zminiaturyzowanymi systemami identyfikacji doprowadziło pod koniec lat 60. do wprowadzenia kilku systemów komercyjnych, które umożliwiły użytkownikom skorzystanie z udogodnień związanych m.in. ze zmniejszeniem przestrzeni magazynowej, wydłużeniem dopuszczalnego okresu magazynowania, wystandaryzowaniem kontroli jakości oraz ułatwieniem obsługi.

Ogólnie rzecz biorąc, wiele wykorzystywanych przez systemy **BBL Crystal ID** testów to modyfikacje metod klasycznych. Obejmują one testy w kierunku fermentacji, utleniania, rozkładu oraz hydrolizy różnych substratów. Dodatkowo, jak w panelu **BBLCrystal ANR ID**, dzięki użyciu substratów złożonych, chromo- i fluorogenicznych, mogą być wykryte enzymy bakteryjne biorące udział w ich metabolizmie różnych substratów^{12,15-22}.

Zestaw **BBLCrystal ANR ID** składa się z (i) pokrywek panelowych **BBLCrystal ANR ID**, (ii) podstawek **BBLCrystal** oraz (iii) probówek z płynem inokulacyjnym (IF) **BBLCrystal ANR**, GP, RGP, N/H ID. Pokrywka zawiera 29 odwodnionych substratów i kontrolę fluorescencji w końcówkach plastikowych ząbków. Podstawka zawiera 30 studzienek reakcyjnych. Inokulum testowe sporządzone jest z płynu inokulacyjnego i używane jest do wypełnienia wszystkich 30 studzienek w podstawie. Po dopasowaniu i zatrześciu pokrywki i podstawki inokulum testowe nasącza suche substraty i inicjuje reakcje testowe.

Po upływie okresu inkubacji należy sprawdzić, czy nastąpiła zmiana koloru lub czy pojawiła się fluorescencja wynikająca z metabolicznej aktywności drobnoustrojów. Powstały wzór 29 reakcji jest przekształcany w 10-cyfrowy numer profilu, wykorzystywany jako podstawa identyfikacji²³. Wzory biochemicznych i enzymatycznych reakcji dla 29 substratów **BBLCrystal ANR ID** dla różnorodnych drobnoustrojów są przechowywane w bazie danych **BBL Crystal ANR ID**. Identyfikacja wynika z analizy porównawczej wzorów reakcji badanych izolatów z tymi, które przechowywane są w bazie danych. Kompletna lista grup taksonomicznych obejmująca obecną bazę danych przedstawiona jest w tabeli 1.

ZASADY PROCEDURY

Panele **BBLCrystal ANR ID** zawierają 29 suchych substratów biochemicznych i enzymatycznych. Do nawodnienia tych substratów jest używana zawiesina bakteryjna w płynie inokulacyjnym. Testy używane w niniejszym systemie opierają się na wykrywaniu za pomocą systemów różnych wskaźników wykorzystania i rozkładu przez bakterie określonych substratów. Enzymatyczna hydroliza substratów fluorogennych zawierających pochodne kumarynowe 4-metyloumberliferonu (4MU) lub 7-amino-4-metylokumaryny (7-AMC) powoduje wzrost fluorescencji, co można wykryć wizualnie¹⁵⁻¹⁹ przy użyciu źródła promieniowania UV¹⁹⁻²¹. Substraty chromogeniczne podczas hydrolizy zmieniają barwę, co również może być wykryte wzrokowo. W systemach ID **BBLCrystal** istnieją różne testy wykrywające zdolność organizmu do hydrolizy, rozkładu, redukcji lub innego sposobu wykorzystania substratu.

Charakter i przebieg reakcji z różnymi substratami zostały w skrócie przedstawione w tabeli 2. Lokalizacja zestawu, przedstawiona w odnośnych tabelach, oznacza rząd oraz kolumnę, w których umieszczona jest studzienka, na przykład: 1J oznacza rząd 1 w kolumnie J).

Tabela 1

Gatunki identyfikowane przez system BBLCrystal ANR ID

Pałeczki Gram-ujemne

Tolerujące żółć	Żółciowrażliwe,	Niepigmentowane,
Grupa <i>Bacteroides fragilis</i>	niepigmentowane	wytwarzające dołki
<i>B. caccae</i>	<i>Prevotella</i>	<i>Bacteroides</i>
Grupa <i>B. distasonis</i> ¹⁰	<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. gonidiaformans</i> ^{1,11}
<i>B. thetaiotaomicron</i>	<i>P. oris</i>	<i>F. mortiferum</i>
<i>B. uniformis</i>	<i>P. veroralis</i> ¹¹	<i>F. necrophorum</i>
<i>B. vulgatus</i>	Niepigmentowane,	<i>F. nucleatum</i>
Inne:	niewytwarzające dołków	<i>F. russii</i>
<i>B. splanchnicus</i>	<i>Bacteroides</i>	<i>F. varium</i>
<i>Porphyromonas levii</i> ¹¹	<i>B. capillosus</i>	<i>Leptotrichia</i>
Żółciowrażliwe, pigmentowane	<i>Tissierella</i>	<i>L. buccalis</i>
Gatunki <i>Capnocytophaga</i>	<i>T. praeacuta</i>	
<i>Prevotella</i>	Tolerujące żółć,	
<i>P. corporis</i>	niepigmentowane	
<i>P. denticola</i>	<i>Bilophila</i>	
<i>P. intermedia</i>	<i>B. wadsworthia</i>	
<i>P. loeschei</i>	<i>Desulfomonas</i>	
<i>P. melaninogenica</i>	<i>D. pigra</i>	
<i>Porphyromonas</i>	Gatunki <i>Desulfovibrio</i>	
<i>P. asaccharolytica</i>	<i>Campylobacter</i>	
<i>P. endodontalis</i>	<i>C. curvus/rectus</i>	
<i>P. gingivalis</i>		

Klucz: 1 = Grupa taksonomiczna dostępna jedynie w bazie danych BBL Crystal, BBL podłoże Schaedler.

2 = Grupa taksonomiczna dostępna jedynie w bazach danych BBL Crystal, BBL podłoże Schaedler i alternatywnie BBL Crystal podłoże agarowe z krwią.

3 = Zawiera *B. distasonis* i *B. merdae*.

4 = Te grupy taksonomiczne mają mniej niż 10 unikatowych profili BBL Crystal w aktualnej bazie danych.

Clostridia	Pałeczki Gram-dodatnie, niezarodnikujące	Ziarniaki Gram-dodatnie
Clostridium	Actinomyces	Gemella
<i>C. baratii</i>	<i>A. bovis</i>	<i>G. morbillorum</i>
<i>C. beijerinckii</i>	<i>A. israelii</i>	Peptostreptococcus
<i>C. bifermentans</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. cadaveris</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>	Atopobium	<i>P. prevotii</i>
<i>C. glycolicum</i>	<i>A. minutum</i>	<i>P. tetradius</i>
<i>C. hastiforme</i>	Bifidobacterium	Ruminococcus
<i>C. histolyticum</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>R. productus</i> ¹¹
<i>C. innocuum</i>	<i>B. dentium</i>	Staphylococcus
<i>C. limosum</i>	gatunki <i>B.</i>	<i>S. saccharolyticus</i>
<i>C. novyi</i> A	Eubacterium	Streptococcus
<i>C. paraputrificum</i> ¹¹	<i>E. aerofaciens</i>	<i>S. constellatus</i>
<i>C. perfringens</i>	<i>E. lentum</i>	<i>S. intermedius</i>
<i>C. putrificum</i> ¹	<i>E. limosum</i>	Ziarniaki Gram-ujemne
<i>C. ramosum</i>	Mobiluncus	Gatunki <i>Veillonella</i>
<i>C. septicum</i>	<i>M. curtisii</i>	
<i>C. sordellii</i>	<i>M. mulieris</i>	
<i>C. sphenoides</i>	gatunki <i>M.</i> ^{2,11}	
<i>C. sporogenes</i>	Propionibacterium	
<i>C. subterminale</i>	<i>P. acnes</i>	
<i>C. tertium</i>	<i>P. avidum</i>	
<i>C. tetani</i> ⁴	<i>P. granulosum</i> ⁴	
	<i>P. propionicus</i>	
	Lactobacillus	
	<i>L. acidophilus</i>	
	<i>L. casei</i>	
	<i>L. cateniformis</i>	
	<i>L. fermentum</i>	
	<i>L. jensenii</i>	
	<i>L. johnsonii</i>	
	<i>L. rhamnosus</i>	

Tabela 2

Reakcje wykorzystywane w systemie BBL Crystal ANR ID

Pozycja panelu	Cecha testu	Kod	Zasada (Referencja)
4A	Ujemna kontrola fluorescencji	FCT	Kontrola w celu standaryzacji wyników substratu fluorescencyjnego.
2A	L-arginina-AMC	FAR	Enzymatyczna hydroliza amidu lub wiązania glikozydowego powoduje uwolnienie fluorescencyjnych pochodnych kumaryny ¹⁹⁻²¹ .
1A	L-histydyna-AMC	FHI	
4B	4MU- α -D-mannozyd	FAM	
2B	L-seryna-AMC	FSE	
1B	L-izoleucyna-AMC	FIS	
4C	4MU- β -D-mannozyd	FBM	
2C	Glicyna-AMC	FGL	
1C	L-alanina-AMC	FAL	
4D	4MU-N-acetylo- β -D-galaktozaminid	FGA	
2D	Kwas L-pirolutaminowy-AMC	FPY	
1D	L-lizyna-AMC	FLY	
4E	L-metionina-AMC	FME	
2E	4MU- β -D-cellobiozopiranozyd	FCE	
1E	4MU- β -D-ksylozyd	FXY	
4F	L-feniloalanina-AMC	FPH	
2F	L-leucyna-AMC	FLE	
1F	Eskozył	FSC	Hydroliza wiązania glikozydowego powoduje uwolnienie niefluorescencyjnej eskuliny ²² .
4G	Disacharyd	DIS	Wykorzystanie węglowodanów powoduje obniżenie pH i zmianę barwy wskaźnika (czerwień fenolowa) ^{1,2,11,12} .
2G	Furanoza	FUR	
1G	Piranoza	PYO	
4H	p-nitrofenylo- α -D-galaktozyd	AGA	Enzymatyczna hydroliza bezbarwnego glikozydu podstawionego arylem powoduje uwolnienie żółtego p-nitrofenolu ¹⁵⁻¹⁹ .
2H	p-nitrofenylo- β -D-galaktozyd	NPG	
1H	p-nitrofenylo-fosforan	PHO	
4I	p-nitrofenylo- α -D-glukozyd	AGL	
2I	p-nitrofenylo-N-acetylo-glukozaminid	NAG	
1I	L-prolina-p-nitroanilid	PRO	Enzymatyczna hydroliza bezbarwnego glikozydu podstawionego arylem powoduje uwolnienie żółtego p-nitrofenolu ¹⁵⁻¹⁹ .
4J	p-nitrofenylo- α -L-fukozyd	AFU	Enzymatyczna hydroliza bezbarwnego glikozydu podstawionego arylem powoduje uwolnienie żółtego p-nitrofenolu ¹⁵⁻¹⁹ .
2J	p-nitrofenylo- β -D-glukozyd	BGL	
1J	L-alanylo-L-alanino-p-nitroanilid	ALA	Enzymatyczna hydroliza bezbarwnego substratu amidowego powoduje uwolnienie żółtej p-nitroaniliny ¹⁵⁻¹⁹ .

Odczynniki

Panel **BBL Crystal ANR** ID zawiera 29 enzymatycznych i biochemicznych substratów. Lista substancji aktywnych znajduje się w poniższej tabeli.

Tabela 3

Odczynniki stosowane w systemie BBLCrystal ANR ID

Pozycja panelu	Substrat	Kod	Wynik dodatni	Wynik ujemny	Składniki aktywne	Ilość - około (g/L)
4A	Ujemna kontrola fluorescencji	FCT	n/a	n/a	Fluorescencyjne pochodne kumaryny	≤1
2A	L-arginina-AMC	FAR	blekitna fluorescencja >studzienka FCT	blekitna fluorescencja sstudzienka FCT	L-arginina-AMC	≤1
1A	L-histydyna-AMC	FHI	blekitna fluorescencja >studzienka FCT	blekitna fluorescencja sstudzienka FCT	L-histydyna-AMC	≤1
4B	4MU-α-D-mannozyd	FAM	blekitna fluorescencja >studzienka FCT	blekitna fluorescencja sstudzienka FCT	4MU-α-D-mannozyd	≤1
2B	L-seryna-AMC	FSE	blekitna fluorescencja >studzienka FCT	blekitna fluorescencja sstudzienka FCT	L-seryna-AMC	≤1
1B	L-izoleucyna-AMC	FIS	blekitna fluorescencja >studzienka FCT	blekitna fluorescencja sstudzienka FCT	L-izoleucyna-AMC	≤1
4C	4MU-β-D-mannozyd	FBM	blekitna fluorescencja >studzienka FCT	blekitna fluorescencja sstudzienka FCT	4MU-β-D-mannozyd	≤1
2C	Glicyna-AMC	FGL	blekitna fluorescencja >studzienka FCT	blekitna fluorescencja sstudzienka FCT	Glicyna-AMC	≤1
1C	L-alanina-AMC	FAL	blekitna fluorescencja >studzienka FCT	blekitna fluorescencja sstudzienka FCT	L-alanina-AMC	≤1
4D	4MU-N-acetylo-β-D-galaktozaminid	FGA	blekitna fluorescencja >studzienka FCT	blekitna fluorescencja sstudzienka FCT	4MU-N-acetylo-β-D-galaktozaminid	≤1
2D	Kwas L-pirolglutaminowy-AMC	FPY	blekitna fluorescencja >studzienka FCT	blekitna fluorescencja sstudzienka FCT	Kwas L-pirolglutaminowy-AMC	≤1
1D	L-lizyna-AMC	FLY	blekitna fluorescencja >studzienka FCT	blekitna fluorescencja sstudzienka FCT	L-lizyna-AMC	≤1
4E	L-metionina-AMC	FME	blekitna fluorescencja >studzienka FCT	blekitna fluorescencja sstudzienka FCT	L-metionina-AMC	≤1
2E	4MU-β-D-cellobiozopiranozyd	FCE	blekitna fluorescencja >studzienka FCT	blekitna fluorescencja sstudzienka FCT	4MU-β-D-cellobiozopiranozyd	≤1
1E	4MU-β-D-ksylozyd	FXY	blekitna fluorescencja >studzienka FCT	blekitna fluorescencja sstudzienka FCT	4MU-β-D-ksylozyd	≤1
4F	L-fenylalanina-AMC	FPH	blekitna fluorescencja >studzienka FCT	blekitna fluorescencja sstudzienka FCT	L-fenylalanina-AMC	≤1
2F	L-leucyna-AMC	FLE	blekitna fluorescencja >studzienka FCT	blekitna fluorescencja sstudzienka FCT	L-leucyna-AMC	≤1
1F	Eskozył*	FSC	blekitna/zielona >studzienka FCT	blekitna/zielona sstudzienka FCT	Eskozył	≤1
4G	Disacharyd	DIS	złoty/zółty	pomarańczowy/czerwony	Disacharyd	≤300
2G	Furanoza	FUR	złoty/zółty	pomarańczowy/czerwony	Furanoza	≤300
1G	Piranoza	PYO	złoty/zółty	pomarańczowy/czerwony	Piranoza	≤300
4H	p-nitrofenylo-α-D-galaktozyd	AGA	zółty	bezbarny	p-nitrofenylo-α-D-galaktozyd	≤7
2H	p-nitrofenylo-β-D-galaktozyd	NGP	zółty	bezbarny	p-nitrofenylo-β-D-galaktozyd	≤7
1H	p-nitrofenylo-fosforan	PHO	zółty	bezbarny	p-nitrofenylo-fosforan	≤7
4I	p-nitrofenylo-α-D-glukozyd	AGL	zółty	bezbarny	p-nitrofenylo-α-D-glukozyd	≤7
2I	p-nitrofenylo-N-acetylo-glukozaminid	NAG	zółty	bezbarny	p-nitrofenylo-N-acetylo-glukozaminid	≤7
1I	L-prolina-p-nitroanilid	PRO	zółty	bezbarny	L-prolina-p-nitroanilid	≤7
4J	p-nitrofenylo-α-L-fukozyd	AFU	zółty	bezbarny	p-nitrofenylo-α-L-fukozyd	≤7
2J	p-nitrofenylo-β-D-glukozyd	BGL	zółty	bezbarny	p-nitrofenylo-β-D-glukozyd	≤7
1J	L-alanylo-L-alanina-p-nitroanilid	ALA	zółty	bezbarny	L-alanylo-L-alanina-p-nitroanilid	≤7

* Eskozył jest substratem fluoryzującym przed uwodnieniem. Fluorescencja zmniejsza się w obecności enzymu.

Środki ostrożności: Produkt przeznaczony do diagnostyki *in vitro*

Po użyciu wszystkie materiały zakaźne w tym płytki, bawełniane wymazówki, próbówki z inokulum, papierowe filtry wykorzystywane do testu indolowego i panele muszą być sterylizowane w autoklawie przed wyrzuceniem lub spalaniem.

PRZECZOWYWANIE I SPOSÓB POSTĘPOWANIA / DOPUSZCZALNY OKRES MAGAZYNOWANIA

Pokryvky: Pokryvky pakowane są pojedynczo i w trakcie przechowywania w lodówce w temperaturze 2–8 °C nie mogą być otwierane. **NIE ZAMRAŻAĆ.** Należy wzrokowo ocenić opakowanie pod kątem dziur lub pęknięć. Nie należy używać, jeśli opakowanie wygląda na uszkodzone. Płytki znajdujące się w oryginalnym opakowaniu, przechowywane w zalecanych warunkach zachowują oczekiwaną reaktywność do upływu daty ważności.

Podstawki: Podstawki pakowane są w dwóch zestawach po dziesięć sztuk na tacach inkubacyjnych **BBL Crystal**. Podstawki ustawione są stroną roboczą w dół, aby zminimalizować ryzyko zanieczyszczenia drogą powietrzną. Do momentu użycia należy je przechowywać w środowisku wolnym od kurzu w temp. 2–25 °C. Nieużywane podstawki należy przechowywać na tacy, w plastikowej torebce. Puste tace powinny być wykorzystane do inkubacji paneli.

Płyn inokulacyjny: Płyn inokulacyjny (IF) **BBL Crystal ANR, GP, RGP, N/H ID** jest pakowany w dwa zestawy po dziesięć probówek. Należy wzrokowo sprawdzić probówki pod kątem obecności pęknięć, przecieków itp. Nie używać, jeśli stwierdza się przeciek, probówka lub nasadka są uszkodzone lub gdy widoczne są oznaki zanieczyszczenia (np. brak przejrzystości, zmętnienie). Probówki należy przechowywać w temp. 2–25 °C. Data ważności znajduje się na etykiecie probówki. W panelach **BBL Crystal ANR** może być stosowany wyłącznie płyn inokulacyjny **BBL Crystal ANR, GP, RGP, N/H**.

Po odbiorze zestaw **BBL Crystal GP ID** powinien być przechowywany w temp. 2–8 °C. Po otwarciu jedynie pokryvky muszą być przechowywane w temp. 2–8 °C. Pozostałe części zestawu mogą pozostawać w temp. 2–25 °C. Jeśli cały zestaw lub któryś z jego składników był przechowywany w lodówce, przed użyciem musi być ogrzany do temperatury pokojowej.

POBIERANIE PRÓBEK I OBCHODZENIE SIĘ Z NIMI

Systemy **BBL Crystal ID** nie są przeznaczone do bezpośredniego użycia z próbkami klinicznymi. Wykorzystuje się izolaty uzyskane z nieselektywnego podłoża agarowego z krwią jak np. CDC Anaerobe Blood Agar, Brucella Blood Agar, Columbia Blood Agar lub Schaedler Blood Agar. Izolat testowy musi być czystą kulturą, nie starszą niż 24–48 h dla większości gatunków; w przypadku niektórych wolno rosnących ziarniaków (do 72 h) i gatunków *Actinomyces* (do 72–96 h) można użyć starszych kultur. Do przygotowania zawiesiny inokulacyjnej mogą być użyte wyłącznie bawelniane wymazówki. Niektóre wymazówki poliestrowe mogą być powodem problemów z inokulacją panelu. (Zobacz część „Ograniczenia procedury”). Po wyjęciu pokrywki z zabezpieczonych torebek, należy w celu zapewnienia odpowiedniej dokładności badania zużyć je w ciągu 1 godziny. Pokrywka powinna pozostawać w plastikowym opakowaniu aż do chwili użycia.

Stosowany inkubator powinien być wyposażony w system nawilżania, aby zapobiec odparowaniu płynu ze studzienek w trakcie inkubacji. Zalecany poziom wilgotności wynosi 40–60%. Użyteczność systemów **BBL Crystal ID** lub jakiegokolwiek innej procedury diagnostycznej wykonywanej na próbkach klinicznych uzależniona jest od jakości samych próbek. Zaleca się szczególnie, aby w laboratoriach stosowane były metody przedstawione w Podręczniku mikrobiologii klinicznej (*Manual of Clinical Microbiology*), określające sposób pobierania próbek, ich transportu i nakładania na podłoża do pierwszej izolacji¹. Inne polecane pozycje, istotne w pracy z materiałem beztlenowym to: *Wadsworth Anaerobic Bacteriology Manual*⁹ i *Principles and Practice of Clinical Anaerobic Bacteriology*³.

PROCEDURA TESTOWA

Dostarczane materiały: Zestaw **BBL Crystal ANR ID**

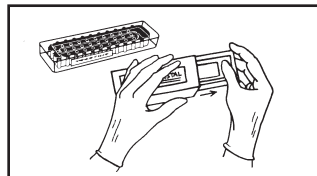
- 20 pokrywek panelu **BBL Crystal Anaerobe ID**,
- 20 podstawek **BBL Crystal**,
- 20 probówek z płynem inokulacyjnym **BBL Crystal ANR, GP, RGP, N/H ID**. W każdej probówce znajduje się około 2,3 ± 0,15 mL płynu inokulacyjnego zawierającego: KCl 7,5 g, CaCl₂ 0,5 g, Tricino N-[2-Hydroxy-1, 1-bis (hydroxymetylo)metylo] glicyny 0,895 g, wody oczyszczonej do 1000 mL.
- 2 tace inkubacyjne,
- 1 tablet wyników **BBL Crystal RGP ID Report Pad**.

Materiały niedostarczane: Sterylna bawelniana wymazówka (*nie wolno używać wymazówek poliestrowych*), inkubator (35–37 °C) bez obiegu CO₂ (poziom wilgotności 40–60%), standardy McFarlanda nr 4 i nr 5, czytnik paneli **BBL Crystal** Panel Viewer, elektroniczna książka kodów systemu **BBL Crystal ID** lub książka kodów **BBL Crystal ANR**, odczytnik do wykrywania indolu **BBL DMACA Indole Reagent Droppers**, nieselektywne podłoże i odczynnik do wykrywania katalazy.

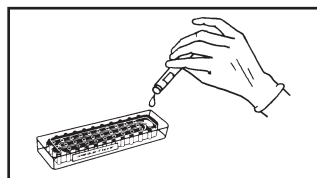
Ponadto wymagane jest niezbędne wyposażenie oraz sprzęt laboratoryjny używany do przygotowania i przechowywania próbek klinicznych oraz pracy z nimi.

Procedura testowa: System **BBL Crystal ANR ID** wymaga barwienia metodą Grama, wyników testów katalazy i indolowego. Testy katalazy i indolowy należy wykonać przed skonfigurowaniem panelu. Test indolowy należy przeprowadzić zgodnie z instrukcjami na ulotce dołączonej do opakowania. Do wykonania testu katalazy należy użyć 15,0% roztworu nadtlenu wodoru z dodatkiem 1,0% Tween 80^{9,24}.

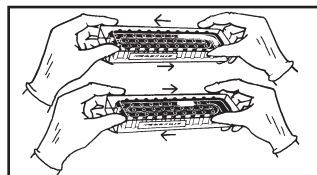
1. Wyjąć pokryvky z torebek. Wyrzucić środek pochłaniający wilgoć. Po rozpakowaniu pokryvky muszą być użyte w ciągu 1 godziny. Nie używać panelu, jeśli w opakowaniu nie było środka pochłaniającego wilgoć.
2. Probówkę inokulacyjną oznaczyć numerem próbki pobranej od pacjenta. Zachowując zasady aseptyki, końcem sterylnej bawelnianej wymazówki (*nie używać wymazówek poliestrowych*), drewnianego aplikatora lub jednorazowej, plastikowej ezy pobierać z zalecanym podłożem kolonie o takim samym wyglądzie (zobacz część „Pobieranie próbek i obchodzenie się z nimi”).
3. Wykonać zawieszę kolonii w probówce z płynem inokulacyjnym (IF) **BBL Crystal ANR, GP, RGP, N/H ID**.



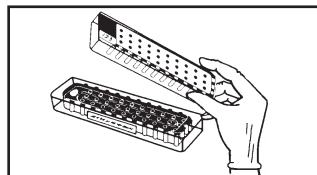
4. Zamknąć probówkę i wirować ją przez ok. 10–15 s. Gęstość zawiesiny powinna odpowiadać standardowi McFarlanda nr 4 (nie powinna przekraczać nr 5). Jeśli stężenie inokulum przewyższa zalecany standard McFarlanda, zaleca się wykonanie jednej z podanych poniżej czynności:
 - a. Posługując się świeżą probówką z płynem inokulacyjnym, przygotować nowe inokulum odpowiadające nr. 4 standardu McFarlanda.
 - b. Jeśli nie ma dodatkowych kolonii bakteryjnych do przygotowania nowego inokulum, należy, zachowując sterylność, rozcieńczyć zawiesinę do gęstości odpowiadającej nr 4 standardu McFarlanda przez dodanie minimalnej wymaganej objętości (nie wolno przekroczyć 1 mL) 0,85% jałowej soli fizjologicznej. Usunąć nadmiar płynu z probówki sterylną pipetą – ostateczna ilość inokulum musi być równa początkowej objętości probówki ($2,3 \pm 0,15$ mL). Pozostawienie zbyt dużej objętości inokulum spowoduje rozlanie się go na czarną część podstawki i panel przestanie być zdalny do użytku.
5. Boczną ściankę podstawki oznaczyć numerem próbek pobranej od pacjenta.
6. Włożyć całe inokulum do wyznaczonego miejsca w podstawce.



7. Trzymając podstawkę w obu dłoniach, delikatnie nią poruszać, tak aby inokulum po wyznaczonym torze dotarło do wszystkich studzienek. Zlać nadmiar płynu do wyznaczonego miejsca w podstawce i umieścić podstawkę na szczycie stojaka. Z powodu dużej koncentracji komórek w panelach BBLCrystal ANR ID, aby zagwarantować prawidłowe napełnienie wszystkich studzienek, inokulum powinno być przemieszczane po wyznaczonym torze powoli. Przed nałożeniem pokrywki upewnić się, że pomiędzy studzienkami nie ma nadmiaru płynu.

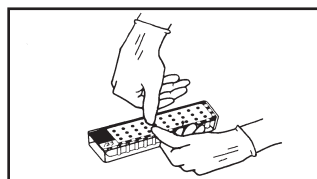


8. Wyrównać pokrywkę, tak aby jej oznaczona krawędź znalazła się na szczycie miejsca docelowego podstawki.

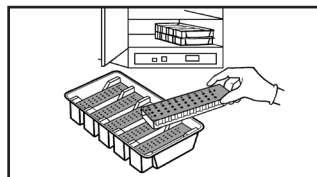


9. Docisnąć, aż będzie wyczuwalny lekki opór. Położyć kciuki na brzegach pokrywki, docisnąć w kierunku środkowej części panelu, aż pokrywka ustawi się na swoim miejscu (będą słyszalne dwa „kliknięcia”).

Płytką kontrolną: Używając sterylnej ezy, pobrać niewielką kroplę z probówki zawierającej płyn inokulacyjny (przed inokulacją podłoża lub po niej) i wykonać posiew na skos agarowy lub płytkę (jakiegokolwiek nieselektywnego podłoża) w celu sprawdzenia czystości. Usunąć probówkę z płynem inokulacyjnym oraz nakrętkę do pojemnika na odpady stanowiące zagrożenie mikrobiologiczne. Inkubować skos lub płytkę przez 24–48 godzin w temperaturze 35–37 °C w warunkach beztlenowych. Jeśli jest to wymagane, płytka kontrolna lub skos mogą być także wykorzystane do wykonania dodatkowych testów lub badań serologicznych.

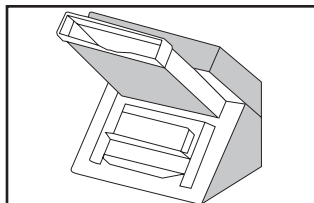


Inkubacja: Umieścić inokulowane panele na tacach inkubacyjnych. Na jednej tacy mieścić się 10 paneli (5 rzędów po 2 panele). Wszystkie panele do inkubacji powinny być **odwrócone** (większe okienka skierowane do góry; etykieta skierowana w dół) i umieszczone w inkubatorze bez obiegu CO₂ przy **wilgotności** 40–60%. Podczas inkubacji tace nie powinny być układane w stos wyższy niż ich dwie wysokości. Czas inkubacji wynosi **4 h** w temp 35–37 °C. **UWAGA:** Podczas inkubacji nie należy zbyt często otwierać inkubatora (nie więcej niż 3 razy).



Odczytywanie: Po zalecanym okresie inkubacji wyjąć panele z inkubatora. Odczytu należy dokonywać z **odwrotnych** paneli (większe okienka skierowane do góry; etykiety skierowane w dół) przy użyciu **BBL Crystal Panel Viewer**. Aby zinterpretować reakcje, zobacz diagram reakcji barwnej i (lub) tabelę 3. Zarejestrować reakcje w tablicy wyników **BBL Crystal ANR Report Pad**.

- W pierwszej kolejności odczytać kolumny od G do J, używając zwykłego (białego) źródła światła.
- Kolumny od A do F (substraty fluorescencyjne) należy odczytać, używając w czytniku źródła promieniowania UV. Odczyt ze studzienek z substratem fluorescencyjnym jest dodatni **wyłącznie** wtedy, gdy obserwowana intensywność fluorescencji jest większa od kontroli ujemnej (A4).



Odczyt numeru kodu (profilu): Każdy dodatni wynik testu (z wyjątkiem 4A – ujemnej kontroli fluorescencji) otrzymuje wartość 4, 2, lub 1, w zależności od rzędu, w którym się znajduje. Wartość 0 (zero) jest przyznawana wynikom ujemnym. Wartości wyników każdej pozytywnej reakcji w każdej kolumnie dodawane są do siebie. Generowana jest 10-cyfrowa liczba, która jest numerem profilu.

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

*(4A) = ujemna kontrola fluorescencji

Należy wybrać odpowiednią bazę danych BBL Crystal Anaerobe. Stosowną bazę danych wskazuje rodzaj pierwotnego podłoża użytego do przygotowania inokulum. Do użytku z podłożami Brucella lub agarowym z krwią (Columbia Blood Agar) należy wybrać alternatywną bazę danych (krwawe podłoże agarowe).

W celu dokonania identyfikacji otrzymany numer profilu i wyniki innych testów (barwienie metodą Grama, test katalazy i indolowy) należy wprowadzić do komputera z zainstalowaną elektroniczną książką kodów **BBL Crystal**. Można również użyć podręcznika kodów. Jeśli nie ma możliwości użycia komputera, w celu uzyskania pomocy w identyfikacji należy skontaktować się z serwisem technicznym BD Diagnostics.

Kontrola jakości przez użytkownika: Wykonanie poniższego testu kontroli jakości jest zalecane dla każdej partii paneli.

- Dokonąć inokulacji panelu przy użyciu *Bacteroides fragilis* ATCC 25285 zgodnie z zalecaną procedurą (zobacz część „Procedura testowa”).
- Przed inkubacją pozostawić panel w temperaturze pokojowej przez 1 min (nie więcej niż 2 min).
- Odczytać i odnotować reakcje za pomocą czytnika panelu i diagramu reakcji barwnych.
- Jeśli jakkolwiek ze studzienek (z wyjątkiem 1F) jest zgodnie z diagramem reakcji barwnych pozytywna (po 1–2 min), **NIE UŻYWAĆ PANELI** z tej partii. Skontaktować się z obsługą techniczną BD. (Uwaga: Reakcja w studzience 1F [Eskozyl] powinna być dodatnia podczas uwadniania.)
- Jeśli wynik we wszystkich studzienkach jest ujemny, należy inkubować panel przez 4 h w temp. 35–37 °C.
- Odczytać panel przy użyciu czytnika panelu i diagramu reakcji barwnych, odnotować reakcje, używając tabletu wyników.
- Porównać odnotowane reakcje z wymienionymi w tabeli 4. Jeśli otrzymano niespójne wyniki, potwierdzić czystość szczepu kontrolnego przed skontaktowaniem się z obsługą techniczną BD Diagnostics.
- W trakcie procesu inkubacji drzwiczki inkubatora nie powinny być wielokrotnie otwierane (najlepiej < 3 razy).

Oczekiwane wyniki testów dodatkowej kontroli jakości szczepów testowych wyszczególniono w tabeli 5.

OGRANICZENIA PROCEDURY

System identyfikacyjny **BBL Crystal ANR** jest przeznaczony do identyfikacji gatunków wymienionych w tabeli 1. Nijęjszy system nie jest przewidziany do stosowania do grup taksonomicznych innych niż wymienione w tabeli 1.

Bazy danych **BBL Crystal Anaerobe ID** zostały stworzone przy użyciu podłoży **BBL**. Pierwotne podłoże użyte do przygotowania inokulum może mieć wpływ na reaktywność niektórych substratów stosowanych w systemach szybkiej identyfikacji. Zalecamy, aby w systemie **ID BBL Crystal ANR** używane były następujące podłoża **BBL**: beztlenowy agar z krwią (CDC Anaerobe Blood Agar), agar z wit. K₁ i 5% krwią owczą (Schaefer Agar with Vitamin K₁ and 5% Sheep Blood), agar z 5% krwią owczą (Columbia Agar with 5% Sheep Blood) i agar z heminą i wit. K₁ (Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K₁) (zobacz część „Dostępność”).

W systemach identyfikacji **BBL Crystal** wykorzystano zmodyfikowane mikrośrodowisko, tak więc spodziewane wartości dla poszczególnych testów mogą różnić się od informacji ustalonych uprzednio przy użyciu konwencjonalnych reakcji testowych. Dokładność systemu **BBL Crystal ANR ID** oparta jest na statystycznym zastosowaniu specjalnie zaprojektowanych testów oraz na wyjątkowej bazie danych.

Ponieważ system **BBL Crystal ANR ID** wspomaga różnicowanie mikrobiologiczne, należy pamiętać, że mogą występować niewielkie różnice w obrębie poszczególnych szczepów w ramach gatunków. Użycie paneli oraz interpretacja wyników wymaga udziału kompetentnego mikrobiologa. W ostatecznej identyfikacji izolatu należy wziąć pod uwagę źródło próbki, tolerancję wobec powietrza, morfologię komórki, charakterystyki kolonii na różnych podłożach, jak również końcowe produkty metabolizmu ustalone na podstawie chromatografii gazowo-cieczowej, gdy jest to wymagane.

Tabela 4

Karta kontroli jakości systemu identyfikacji BBLCrystal ANR *

Pozycja panelu	Substrat	Kod	<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285
4A	Ujemna kontrola fluorescencji	FCT	–
2A	L-arginina-AMC	FAR	V
1A	L-histydyna-AMC	FHI	–
4B	4MU-α-D-mannozyd	FAM	V ¹
2B	L-seryna-AMC	FSE	–
1B	L-izoleucyna-AMC	FIS	–
4C	4MU-β-D-mannozyd	FBM	+
2C	Glicyna-AMC	FGL	–
1C	L-alanina-AMC	FAL	V
4D	4MU-N-acetylo-β-D-galaktozaminid	FGA	+
2D	Kwas L-piroglutaminowy-AMC	FPY	V ^{1,11}
1D	L-lizyna-AMC	FLY	V
4E	L-metionina-AMC	FME	V
2E	4MU-β-D-cellobiozopiranozyd	FCE	+
1E	4MU-β-D-ksylozyd	FXY	V ¹
4F	L-fenylalanina-AMC	FPH	V
2F	L-leucyna-AMC	FLE	+
1F	Eskozył	FSC	– ^{3,4,10}
4G	Disacharyd	DIS	+
2G	Furanoza	FUR	+
1G	Piranoza	PYO	+ ¹
4H	p-nitrofenylo-α-D-galaktozyd	AGA	+
2H	p-nitrofenylo-β-D-galaktozyd	NPG	+
1H	p-nitrofenylo-fosforan	PHO	+
4I	p-nitrofenylo-α-D-glukozyd	AGL	+
2I	p-nitrofenylo-N-acetylo-glukozaminid	NAG	+
1I	L-prolina-p-nitroanilid	PRO	–
4J	p-nitrofenylo-α-L-fukozyd	AFU	+
2J	p-nitrofenylo-β-D-glukozyd	BGL	+
1J	L-alanylo-L-alanina-p-nitroanilid	ALA	+

1 = Ujemny na podłożu **BBL** Schaedler 6 = Zmienny na podłożu **BBL** Brucella
2 = Dodatni na podłożu **BBL** Schaedler 7 = Ujemny na podłożu **BBL** Columbia
3 = Zmienny na podłożu **BBL** Schaedler 8 = Dodatni na podłożu **BBL** Columbia
4 = Ujemny na podłożu **BBL** Brucella 9 = Zmienny na podłożu **BBL** Columbia
5 = Dodatni na podłożu **BBL** Brucella

Tabela 5

Kontrola jakości systemu ID BBL Crystal ANR dla dodatkowych szczepów

Pozycja panelu	Substrat	Kod	<i>Bacteroides distansis</i> ATCC 8503	<i>Peptostreptococcus asaccharolyticus</i> ATCC 29743	<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 314	<i>Fusobacterium varium</i> ATCC 27725
4A	Ujemna kontrola fluorescencji	FCT	–	–	–	–
2A	L-arginina-AMC	FAR	+	+	+	– ^{4,10}
1A	L-histydyna-AMC	FHI	V	+	+ ³	–
4B	4MU-α-D-mannozyd	FAM	+	–	–	–
2B	L-seryna-AMC	FSE	–	–	+ ³	–
1B	L-izoleucyna-AMC	FIS	– ⁴	–	+	–
4C	4MU-β-D-mannozyd	FBM	+ ¹⁰	–	–	–
2C	Glicyna-AMC	FGL	V ^{1,12}	V ¹	V ²	–
1C	L-alanina-AMC	FAL	+	V ¹	+	–
4D	4MU-N-acetylo-β-D-galaktozaminid	FGA	+	–	–	–
2D	Kwas L-piroglutaminowy-AMC	FPY	V ^{1,12}	–	V ^{11,24}	+
1D	L-lizyna-AMC	FLY	V ^{2,12,15}	+	+	–
4E	L-metionina-AMC	FME	+	+ ^{4,10}	+	V
2E	4MU-β-D-cellobiozopiranozyd	FCE	V ¹²	–	+	–
1E	4MU-β-D-ksylozyd	FXY	+ ¹⁰	–	–	–
4F	L-fenylalanina-AMC	FPH	V ¹²	V	+	–
2F	L-leucyna-AMC	FLE	+	+ ¹⁰	+	V
1F	Eskozył	FSC	V	V ^{2,15}	+ ^{3,4,10}	V ¹⁵
4G	Disacharyd	DIS	+	–	+ ^{3,10,24}	–
2G	Furanoza	FUR	+	–	+	V
1G	Piranoza	PYO	+	–	+ ¹⁰	+
4H	p-nitrofenylo-α-D-galaktozyd	AGA	+	–	+ ^{3,4,10}	–
2H	p-nitrofenylo-β-D-galaktozyd	NPG	+	–	+ ^{3,4,10}	–
1H	p-nitrofenylo-fosforan	PHO	+	–	–	–
4I	p-nitrofenylo-α-D-glukozyd	AGL	+	–	V ¹	–
2I	p-nitrofenylo-N-acetylo-glukozaminid	NAG	+	–	V ^{12,15}	–
1I	L-prolina-p-nitroanilid	PRO	–	–	V	–
4J	p-nitrofenylo-α-L-fukozyd	AFU	–	–	–	–
2J	p-nitrofenylo-β-D-glukozyd	BGL	+	–	+	–
1J	L-alanylo-L-alanina-p-nitroanilid	ALA	+	–	V	–

* Są to wyniki należne pod warunkiem, że użyte zostało beztlenowe podłoże agarowe z 5% krwią owczą (**BBL** CDC Anaerobe Agar with 5% sheep blood).

Do przygotowania zawiesiny inokulum należy stosować wyłącznie wymazówki bawełniane, drewniane aplikatory lub jednorazowe plastikowe ezy. Wymazówki poliestrowe mogą zwiększyć lepkość zawiesiny. Może to spowodować niewystarczające wypełnienie studzienek płynem inokulacyjnym. Aby zagwarantować skuteczność działania, pokrywki muszą być użyte w ciągu 1 godziny po rozpakowaniu. Pokrywki powinny pozostawać w plastikowym opakowaniu aż do chwili użycia.

Inkubator, w którym umieszczono panele, powinien być wyposażony w system nawilżania, aby zapobiec odparowaniu płynu inokulacyjnego ze studzienek w trakcie inkubacji. Zalecany poziom wilgotności wynosi 40–60%.

Inokulowane panele do inkubacji powinny być **odwrócone** (większe okienka skierowane do góry, etykieta skierowana w dół), aby maksymalnie zwiększyć skuteczność substratów.

Kolonie należy pobrać z **nieselektywnych** podłoży agarowych z krwią np. **BBL CDC Anaerobe**, **Brucella**, **Columbia**, and **Schaedler** (zobacz część „Dostępność”).

Jeśli profil testowy **BBLCrystal** wskazuje na wynik „Brak identyfikacji”, a czystość szczepu została potwierdzona, prawdopodobnie (i) izolat testowy wytwarza *atypowe reakcje BBLCrystal* (które mogą być również spowodowane nieprawidłowościami postępowania), (ii) szczep testowy nie należy do grupy taksonomicznej wykrywanej przez system lub (iii) system nie jest w stanie zidentyfikować testowego izolatu z zakładaną pewnością. Po wykluczeniu błędu użytkownika zaleca się przeprowadzenie testów z użyciem metod konwencjonalnych.

WŁAŚCIWOŚCI

Odtwarzalność: W badaniu zewnętrznym przeprowadzonym w czterech laboratoriach klinicznych (razem pięć opracowań), odtwarzalność reakcji 29 substratów **BBLCrystal ANR ID** została sprawdzona przez wykonanie testów równoległych. Odtwarzalność reakcji poszczególnych substratów wynosiła od 96,2% do 100%. Całkowita odtwarzalność panelu **BBLCrystal ANR** została oszacowana na 99,1%²⁵.

Dokładność identyfikacji: Działanie systemu **BBLCrystal ANR ID** zostało porównane z aktualnie dostępnymi na rynku systemami, jak również z konwencjonalnymi referencyjnymi metodami identyfikacji (zgodnie z zaleceniami VA Wadsworth Laboratory) przy użyciu **izolatów z materiału klinicznego i czystych kultur laboratoryjnych**. W czterech niezależnych laboratoriach przeprowadzono pięć badań. Do ustalenia właściwości systemu wykorzystano nowe, kliniczne izolaty i izolaty wcześniej zidentyfikowane w ramach badań klinicznych.

Pośród 633 izolatów sprawdzonych w pięciu badaniach, 588 (93%) zostało przez system ID **BBLCrystal ANR** zidentyfikowanych poprawnie (w tym izolaty wymagające dodatkowych testów). 36 (6%) izolatów zostało zidentyfikowanych błędnie, a brak identyfikacji wystąpił w 9 przypadkach (1%)²⁵.

AKCESORIA

Nr kat.	Opis	Nr kat.	Opis
245010	BBLCrystal Anaerobe ID Kit , każdy zawiera 20: BBLCrystal Anaerobe ID Panel Lids , BBLCrystal Bases i BBLCrystal Anaerobe ID Inoculum Fluid .	221734	BBL CDC Anaerobe Blood Agar with 5% Sheep Blood , 100 podłoży.
245038	BBLCrystal ANR, GP, RGP, N/H ID Inoculum Fluid , ilość -10.	221539	BBL Schaedler Agar with Vitamin K₁ and 5% Sheep Blood , 20 podłoży w opakowaniu.
245031	BBLCrystal Panel Viewer , model amerykański, 110 V, 60 Hz.	221540	BBL Schaedler Agar with Vitamin K₁ and 5% Sheep Blood , 100 podłoży.
245032	BBLCrystal Panel Viewer , model europejski, 220 V, 50 Hz.	221165	BBL Columbia Agar with 5% Sheep Blood , 20 podłoży w opakowaniu.
245033	BBLCrystal Panel Viewer , model japoński, 100 V, 50/60 Hz.	221263	BBL Columbia Agar with 5% Sheep Blood , 100 podłoży.
245034	BBLCrystal Panel Viewer Longwave UV Tube .	297848	BBL Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K₁ , 20 podłoży w opakowaniu.
245036	BBLCrystal Panel Viewer White Light Tube .	297716	BBL Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K₁ , 100 podłoży.
245011	BBLCrystal Identification Systems Anaerobe Manual Codebook .	261187	BBL DMACA Indole Reagent Droppers , ilość 50.
221733	BBL CDC Anaerobe Blood Agar with 5% Sheep Blood , 20 podłoży w opakowaniu.	212539	BBL Gram Stain Kit , opakowanie 4 buteleczek po 250 mL bottles.

PIŚMIENNICTWO

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. Konnick. 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-methylumbelliferone 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-methylumbelliferone 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.

Dział Obsługi Technicznej firmy BD Diagnostics: należy się skontaktować z przedstawicielem firmy BD.



Manufacturer / Производител / Výrobce / Fabrikant / Hersteller / Κατασκευαστής / Fabricante / Tootja / Fabricant / Proizvođač / Gyártó / Fabbicante / Atқарушы / Gamintojas / Ražotājs / Tilvirker / Producent / Producător / Производител / Výrobca / Proizvođač / Tilverkare / Üretici / Виробник



Use by / Исполняйте до / Spotføjbt do / Brug før / Verwendbar bis / Χρήση έως / Usar antes de / Kasutada enne / Date de péremption / Upotrijebiti do / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Дейін пайдалануға / Naudokite iki / Izlietot līdz / Houdbaar tot / Brukes for / Stosować do / Prazo de validade / A se utiliza până la / Исползовать до / Použít do / Upotrebiti do / Använd före / Son kulanma tarihi / Використати до ліне
 YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month)
 ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = края на месеца)
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = slutning af måned)
 JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende)
 EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα)
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fin del mes)
 AAAA-KK-PP / AAAA-KK (KK = kuu lõpp)
 AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois)
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj mjeseca)
 ÉÉÉÉ-HH-NN / ÉÉÉÉ-HH (HH = hónap utolsó napja)
 AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese)
 ЖЖЖЖ-АА-КК / ЖЖЖЖ-АА / (АА = айдың соңы)
 MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mēnesio pabaiga)
 GGGG-MM-DD/GGGG-MM (MM = mēneša beigas)
 JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand)
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = sluten av måneden)
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês)
 AAAA-LL-ZZ / AAAA-LL (LL = sfârșitul lunii)
 ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = конец месяца)
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj meseca)
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = slutet av månaden)
 YYYY-AA-GG / YYYY-AA (AA = ayın sonu)
 PPPP-MM-DD / PPPP-MM (MM = кінець місяця)



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



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



In Vitro Diagnostic Medical Device / Медицински уред за диагностика ин витро / Lékařské zařízení určené pro diagnostiku in vitro / In vitro diagnostisk medicinsk anordning / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / In vitro diagnostickeho uradu / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / In vitro diagnostika meditsiiniparatuur / 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 жүргізілетін медициналық диагностика аспабы / In vitro diagnostikos prietaisai / Medicinās ierīces, ko lieto in vitro diagnostikā / Medisch hulpmiddel voor in-vitro diagnostiek / In vitro diagnostisk medisinsk utstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Dispositiv medical pentru diagnostic in vitro / Медицинский прибор для диагностики in vitro / Medicinska pomočka na diagnostiku in vitro / Medicinski uređaj za in vitro dijagnostiku / Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik / In Vitro Dijagnostik Tibbi Cihaz / Медицинский прибор для диагностики ин витро



Temperature limitation / Температурни ограничения / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning / Temperaturbegrenzung / Περιορισμοί θερμοκρασίας / Limitación de temperatura / Temperatuuri piirang / Limites de température / Dovoljena temperatura / Hömersékleti határ / Limiti di temperatura / Temperatuuri shtreke / Laikymo temperatūra / Temperatūras ierobežojumi / Temperaturlimit / Temperaturbegrænsning / Ograniczenie temperatury / Limites de temperatura / Limite de temperatură / Ограничение температуры / Ohraničenje teploty / Ograničenje temperature / Temperaturgräns / Sıcaklık sınırlaması / Обмеження температури



Batch Code (Lot) / Код на партидата / Kód (číslo) šarže / Batch-code (lot) / Batch-Code (Charge) / Κωδικός παρτίδας (παρτίδα) / Código de lote (lote) / Partii kod / Numéro de lot / Lot (kod) / Tétel száma (Lot) / Codice batch (lotto) / Топтама коды / Partijos numeris (LOT) / Partijas kods (laidiens) / Lot nummer / Batch-code (parti) / Kod partii (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 / Prostudujte pokyny k použití / Se brugsanvisningen / Gebrauchsanweisung beachten / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Consultar las instrucciones de uso / Lugeda kasutusjuhendit / Consulter la notice d'emploi / Koistuti urpiste za upotrebu / Olvassa el a használati utasítást / Consultare le istruzioni per l'uso / Пайдалану нұсқаулығымен танысып алыңыз / Skatytite naudojimo instrukcijas / Skatīt lietošanas pamācību / Raadpleeg de gebruiksaanwijzing / Se i bruksanvisningen / Zobacz instrukcja użytkowania / Consultar as instruções de utilização / Consultați instrucțiunile de utilizare / См. руководство по эксплуатации / Pozri Pokyny na používanie / Pogledajte uputstvo za upotrebu / Se bruksanvisningen / Kullanni 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