

BD BBL Crystal Identification Systems **Neisseria/Haemophilus ID Kit**



8809691JAA(02)
2015-01
Lietuviai

SKIRTA NAUDOTI

The **BD BBL Crystal Neisseria/Haemophilus (N/H)** identifikavimo (ID) sistema pagrįsta miniatiūrizuota metodika, pagal kurią naudojami modifikuoti tradiciniai, fluorogeniniai ir chromogeniniai substratai. Ji skirta dažnai iš klinikinių bandinių išskiriamų *Neisseria*, *Haemophilus* ir kitų reiklųjų bakterijų identifikacijai.^{1,2,6,15,18}

SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAS

Biocheminio mikroorganizmų identifikavimo mikrometodai jau žinomi nuo 1918 m.³ Keliose publikacijose minima apie reagentais impregnuotų diskų ir mikromėgintuvėlių metodo naudojimą žarnyno bakterijoms diferencijuoti.^{3,4,8,19,21} Susidomėjimas miniatiūrizuotomis identifikavimo sistemomis 7-ojo dešimtmečio pabaigoje paskatino keletą komercinių sistemų atsiradimą, ir jų pranašumą lėmė mažos erdvės poreikis, ilgas galiojimo laikas, standartizuota kokybės kontrolė ir paprastas naudojimas.

Daugelis **BD BBL Crystal ID** sistemose naudojamų tyrimų yra modifikuoti klasikiniai metodai. Tarp jų yra įvairių substratų fermentacijos, oksidacijos, skaldymo ir hidrolizės reakcijų. Be to, kaip ir **BD BBL Crystal N/H** identifikavimo panelyje, mikroorganizmams fermentų, metabolizuojančių įvairius substratus, nustatymui naudojami substratai, žymėti chromogenais ir fluorogenais.^{5,6,8-10,13-17}

BD BBL Crystal N/H ID rinkinį sudaro: i) **BD BBL Crystal N/H ID** panelio dangteliai, ii) **BD BBL Crystal** pagrindai ir iii) mėgintuvėliai su **BD BBL Crystal** anaerobų (ANR), gram (+) (GP), ekspres gram (+) (RGP), neiserijų/hemofilų (N/H) ID inokulavimo skysčiu. ID panelio dangtelyje ant plastmasinių strypelių galų yra 29 dehidratuoti substratai ir fluorescencijos kontrolės reagentas. Pagrindė yra 30 reakcijos šulinėlių. Inokuliatas paruošiamas inokulavimo skystyje ir juo užpildomi visi 30 pagrindo šulinėlių. Kai dangtelis uždedamas ant pagrindo ir uždaromas, tiriamas inokuliatas sudrėkina dehidratuotus substratus ir sukelia reakcijas.

Po inkubacijos periodo įvertinamas šulinėlių spalvos pasikeitimas ar fluorescencija, atsirandanti dėl mikroorganizmų metabolizmo. Gauti 29 reakcijų rezultatai verčiami į dešimties ženklų profilio numerį, pagal kurį vykdoma tolesnė identifikacija.²⁰ Biocheminių ir fermentinių reakcijų su 29 **BD BBL Crystal N/H ID** substratais profiliai yra saugomi **BD BBL Crystal N/H 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

BD BBL Crystal N/H ID panelyje yra 29 dehidratuoti biocheminių ir fermentinių reakcijų substratai. Substratai rehidratuojami bakterijų suspensija inokulavimo skystyje. Šioje sistemoje mikrobai utilizuoja ir skaldo specifinius substratus, o reakcijos išryškinaamos įvairiais indikatoriais. Fluorogeninių substratų, turinčių 4-metilumbeliferono (4MU) kumarino derivatų, arba 7-amino-4-metilkumarino (7-AMC) fermentinė hidrolizė sukelia fluorescenciją, kurią lengva aptikti UV šviesoje.^{13,14,16,17} Chromogeniniai substratai pakeičia spalvą, jei įvyksta jų hidrolizė. Be to, **BD BBL Crystal ID** sistemoje naudojami ir kiti tyrimai, kurie nustato mikrobo sugebėjimą hidrolizuoti, skaldyti, redukuoti ar kitaip utilizuoti substratą.

Reakcijos, vykstančios su įvairiais 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.

BD BBL Crystal N/H ID sistemos taksonai

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

Paaikškinimas. 1 = šie taksonai turi <10 unikalių BD BBL Crystal profilinių numerių dabartinėje duomenų bazėje.

2 lentelė.

BD BBL Crystal N/H ID sistemoje naudojamų tyrimų principai

Vieta panelyje	Tyrimo apibūdinimas	Kodas	Tyrimo principas (metodika)
4A	Neigiama fluorescencijos kontrolė	FCT	Kontrolė atlikti standartinį fluorescuojančiai substratai rezultatai.
2A	4MU-fosfatas	FHO	Fermentinė amidinės arba glikozidinės jungties
1A	L-prolino-AMC	FPR	hidrolizė atpalaiduoja fluorescuojantį kumarino
4B	L-serino-AMC	FSE	derivatą. ^{5,9,13,14,16,17}
2B	LYS-ALA-AMC	FLA	
1B	L-triptofano-AMC	FTR	
4C	L-fenilalanino-AMC	FPH	
2C	N-sukcinil-ALA-PRO-ALA-AMC	FNS	
1C	ALA-ALA-PHE-AMC	FAA	
4D	L-gliutamato-AMC	FTA	
2D	L-arginino-AMC	FAR	
1D	Ornitino-AMC	FOR	
4E	Glicino -AMC	FGL	
2E	GLY-PRO-AMC	FGP	
1E	4MU-β-D-galaktozidas	FBG	
4F	Sacharozė	SAC	Angliavandenio utilizavimas sumažina pH ir pakeičia
2F	Maltotriozė	MTT	indikatoriaus (fenolo raudonio) spalvą. ^{1-4,8,18}
1F	Karubinozė	CAR	
4G	Piranozė	PYO	
2G	Maltobiozė	MTB	
1G	Disacharidas	DIS	
4H	Riberolis	RBL	
2H	Levuliozė	LEV	
1H	paranitrofenilfosforilcholinis	PHC	Fermentinė bespalvio arilinto glikozido hidrolizė atpalaiduoja geltoną paranitrofenolą. ^{5,10,14}
4I	γ-L-gliutamilparanitroanilinas	GGL	Fermentinė bespalvio amidinio substrato hidrolizė atpalaiduoja geltoną paranitroaniliną. ^{5,10,14}
2I	paranitrofenilfosforilcholinis	PHO	Fermentinė bespalvio arilinto glikozido hidrolizė atpalaiduoja geltoną paranitrofenolą. ^{5,10,14}
1I	o-nitrofenil-β-D-galaktozidas (ONPG)	OPG	
4J	Šlapalas	URE	Šlapalo hidrolizės metu, atsipalaidavęs amonis pakeičia pH indikatoriaus (bromtimolio mėlio) spalvą. ^{2,7,12}
2J	Resazurinas	REZ	Resazurino redukcija iki rezorufino pakeičia spalvą. ⁶
1J	Ornitas	ORN	Ornitino utilizavimas padidina pH ir pakeičia indikatoriaus (bromkrezolio purpuro) spalvą. ²

Reagentai

BD BBL Crystal N/H ID panelyje yra 29 dehidruoti fermentinių ir biocheminių reakcijų substratai. Aktyvioji medžiaga nurodoma 3 lentelėje.

3 lentelė.

BD BBL Crystal N/H ID sistemoje naudojami reagentai

Vieta panelyje	Substratas	Kodas	Teigiama reakcija	Neigiama reakcija	Aktyvioji medžiaga	Apytikrė konc. (g/L)
4A	Neigiama fluorescencijos kontrolė	FCT	nevertinama	nevertinama	Fluorescuojantis kumarino derivatas	≤ 1
2A	4MU-fosfatas	FHO	Melsva fluorescencija >FCT šulinėlio	Melsva fluorescencija ≤ FCT šulinėlio	4MU-fosfatas	≤ 1
1A	L-prolino-AMC	FPR	Melsva fluorescencija >FCT šulinėlio	Melsva fluorescencija ≤ FCT šulinėlio	L-prolino-AMC	≤ 1
4B	L-serino-AMC	FSE	Melsva fluorescencija >FCT šulinėlio	Melsva fluorescencija ≤ FCT šulinėlio	L-serino-AMC	≤ 1
2B	LYS-ALA-AMC	FLA	Melsva fluorescencija >FCT šulinėlio	Melsva fluorescencija ≤ FCT šulinėlio	LYS-ALA-AMC	≤ 1
1B	L-triptofano-AMC	FTR	Melsva fluorescencija >FCT šulinėlio	Melsva fluorescencija ≤ FCT šulinėlio	L-triptofano-AMC	≤ 1
4C	L-fenilalanino-AMC	FPH	Melsva fluorescencija >FCT šulinėlio	Melsva fluorescencija ≤ FCT šulinėlio	L-fenilalanino-AMC	≤ 1
2C	N-sukcinil-ALA-PRO-ALA-AMC	FNS	Melsva fluorescencija >FCT šulinėlio	Melsva fluorescencija ≤ FCT šulinėlio	N-sukcinil-ALA-PRO-ALA-AMC	≤ 1
1C	ALA-ALA-PHE-AMC	FAA	Melsva fluorescencija >FCT šulinėlio	Melsva fluorescencija ≤ FCT šulinėlio	ALA-ALA-PHE-AMC	≤ 1
4D	L-glutamato-AMC	FTA	Melsva fluorescencija >FCT šulinėlio	Melsva fluorescencija ≤ FCT šulinėlio	L-glutamato-AMC	≤ 1
2D	L-arginino-AMC	FAR	Melsva fluorescencija >FCT šulinėlio	Melsva fluorescencija ≤ FCT šulinėlio	L-arginino-AMC	≤ 1
1D	Ornitino-AMC	FOR	Melsva fluorescencija >FCT šulinėlio	Melsva fluorescencija ≤ FCT šulinėlio	Ornitino-AMC	≤ 1
4E	Glicino -AMC	FGL	Melsva fluorescencija >FCT šulinėlio	Melsva fluorescencija ≤ FCT šulinėlio	Glicino -AMC	≤ 1
2E	GLY-PRO-AMC	FGP	Melsva fluorescencija >FCT šulinėlio	Melsva fluorescencija ≤ FCT šulinėlio	GLY-PRO-AMC	≤ 1
1E	4MU-β-D-galaktozidas	FBG	Melsva fluorescencija >FCT šulinėlio	Melsva fluorescencija ≤ FCT šulinėlio	4MU-β-D-galaktozidas	≤ 1
4F	Sacharozė	SAC	Aukso/geltona	Oranžinė/raudona	Sacharozė	≤ 300
2F	Maltotriozė	MTT	Aukso/geltona	Oranžinė/raudona	Maltotriozė	≤ 300
1F	Karubinozė	CAR	Aukso/geltona	Oranžinė/raudona	Karubinozė	≤ 300
4G	Piranozė	PYO	Aukso/geltona	Oranžinė/raudona	Piranozė	≤ 300
2G	Maltobiozė	MTB	Aukso/geltona	Oranžinė/raudona	Maltobiozė	≤ 300
1G	Disacharidas	DIS	Aukso/geltona	Oranžinė/raudona	Disacharidas	≤ 300
4H	Riberolis	RBL	Aukso/geltona	Oranžinė/raudona	Riberolis	≤ 300
2H	Levuliozė	LEV	Aukso/geltona	Oranžinė/raudona	Levuliozė	≤ 300
1H	paranitrofenilfosforilcholinis	PHC	Aukso/geltona	Oranžinė/raudona	paranitrofenilfosforilcholinis	≤ 10
4I	γ-L-glutamilparanitroanilidas	GGL	Aukso/geltona	Oranžinė/raudona	γ-L-glutamilparanitroanilidas	≤ 10
2I	paranitrofenilfosfatas	PHO	Aukso/geltona	Oranžinė/raudona	paranitrofenilfosfatas	≤ 10
1I	o-nitrofenil-β-D-galaktozidas (ONPG)	OPG	Geltona	Bespalvė	o-nitrofenil-β-D-galaktozidas (ONPG)	≤ 10
4J	Šlapalas	URE	Melsva	Geltona/žalia	Šlapalas	≤ 50
2J	Resazurinas	REZ	Rausva	Mėlyna/purpurinė	Resazurinas	≤ 1
1J	Ornitas	ORN	Purpurinė	Geltona/pilka	Ornitas	≤ 200

Atsargumo priemonės *in vitro* diagnostikai.

Panaudotas infekcinės medžiagos (tarp jų lėkštes, vatinius tamponus, inokulianto mėgintuvėlius, panelius) prieš išmetant arba sudeginant reikia sterilizuoti autoklave.

LAIKYMAS IR NAUDOJIMAS/SANDĖLIAVIMO LAIKAS

Dangteliai. Dangteliai yra supakuoti individualiai. Juos saugoti reikia nepažeistoje pakuotėje šaldytuve 2–8 °C temperatūroje. NEUŽ–ALDYTI! Patikrinkite, ar panelių pakuotėje nėra skylių ir įplyšimų. Nenaudokite, jei pakuotė atrodo pažeista. Laikant pagal rekomendacijas originalioje pakuotėje, dangteliai išlaikys reikiamą reaktyvumą iki galiojimo laiko pabaigos.

Pagrindai. Pagrindai supakuoti į du paketus po 10 **BD BBL Crystal** inkubacijos lovėliuose. Pagrindai sudėti dugnu į viršų, siekiant sumažinti jų išorinį užteršimą. Kai nenaudojate, laikykite maišelius mažai dulkių turinčioje aplinkoje 2–30 °C temperatūroje. Nepanaudotus pagrindus laikykite lovėlyje, įdėję į maišelį. Tuščius lovėlius galima naudoti panelių inkubavimui termostate.

Inokuliavimo skystis. **BD BBL Crystal ANR, GP, RGP, N/H ID** inokuliavimo skystis (IS) supakuotas į du paketus po 10 mėgintuvėlių. Patikrinkite ar mėgintuvėliai nepraleidžia skysčio, ar nepažeisti ir t. t. Jei mėgintuvėliai praleidžia skystį, pažeistas mėgintuvėlis ar dangtelis ar yra skysčio užteršimo požymių (drumstumo, balzganumo), tokio inokuliavimo skysčio nenaudokite. Laikykite inokuliavimo skystį 2–25 °C temperatūroje. Galiojimo data nurodyta ant mėgintuvėlio etiketės. **BD BBL Crystal N/H** paneliams naudoti tik **BD BBL Crystal ANR, GP, RGP, N/H** inokuliavimo skystį.

Gavę **BD BBL Crystal** N/H ID rinkinį, laikykite jį 2–8 °C temperatūroje. Išpakavus jį, dangtelius laikykite 2–8 °C temperatūroje, o likusius komponentus 2–25 °C temperatūroje. Jei rinkinys ar jo komponentai yra saugomi atšaldyti, prieš naudojant juos reikia sušildyti iki kambario temperatūros.

BANDINIO PAĖMIMAS IR TYRIMAS

BD BBL Crystal ID sistemos nėra skirtos identifikavimui tiesiai iš klinikinio bandinio. Jomis tiriamos izoliuotos kolonijos nuo tokių terpių: šokolado spalvos agaro, **Trypticase** sojos agaro su 5 % avies krauju (TSA), Columbia agaro su 5 % avies krauju (Kolumbija) ir Nutrient agaro. Taip pat galima naudoti selektyvias terpes: Martin-Lewis agarą, modifikuotą Thayer-Martin agarą (MTM), modifikuotą New York City (NYC) terpę, V agarą (*G. vaginalis*) ir **GC-Lect** agarą. Negalima naudoti terpių, turinčių eskulino. Tiriamą koloniją turi būti gryna ir ne senesnė kaip 18–24 valandų; kai kuriems lėtai augantiems mikrobams galima naudoti ne senesnes kaip 48 val. kultūras. Inokuliacijos suspensijos turi būti ruošiamos tik vatinais tamponėliais, nes kai kurių poliesterinų tamponėlių naudojimas gali sutrukdyti pavelio užsėjimą (žr. „Metodikos trūkumai“). Norint užtikrinti adekvacias reakcijas, atidarytus dangtelius reikia sunaudoti per 1 valandą. Naudojimo metu plastikinis dangtis turi būti ant pavelio dangtelio.

Kad paveliuose esantis inokuliacijos skystis inkubuojant neišgaruotų, termostatas turi būti drėkinamas. Rekomenduojamas 40–60 % drėgnumas. **BD BBL Crystal** ID sistemoms, kaip ir bet kuriai kitai diagnostinei procedūrai su klinikiniais bandiniais, tiesioginė įtaka turi paties bandinio kokybė. Laboratorijai rekomenduojama naudoti bandinių rinkimo, transportavimo ir pasėjimo į pirminę terpę metodikas, pateiktas Klinikinės mikrobiologijos vadove (*Manual of Clinical Microbiology*).^{1,17}

TYRIMO ATLIKIMO METODIKA

Pateikti reikmenys: **BD BBL Crystal** N/H ID rinkinys –

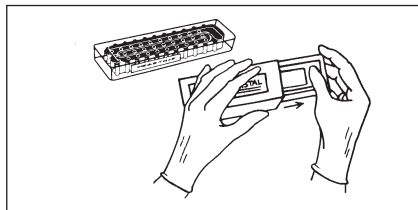
- 20 **BD BBL Crystal** N/H ID dangtelių,
- 20 **BD BBL Crystal** pagrindų,
- 20 **BD BBL Crystal** ANR, GP, RGP, N/H ID inokuliacijos skysčio mėgintuvėlių. Viename mėgintuvėlyje yra apie $2,3 \pm 0,15$ mL inokuliacijos skysčio, kurio sudėtis tokia: KCl 7,50 g, CaCl_2 0,5 g, Tricin N-[2-hidroksi-1,1-bi(hidroksimetil)metil] glicino 0,895 g, purifikuoto vandens iki 1000 mL.
- 2 inkubavimo lovėliai.
- 1 **BD BBL Crystal** N/H ID atskaitos aplankas.

Nepateikti reikmenys: Sterilus vatos tamponėliai (*nenaudoti poliesterinų tamponėlių*), ne CO₂ inkubavimo termostatas (35–37 °C) palaikomas drėgnumas (40–60 %), McFarland standartas Nr. 3, **BD BBL Crystal** lempa, **BD BBL Crystal** ID elektroninė kodų knyga ar vadovas ir atitinkamos terpės.

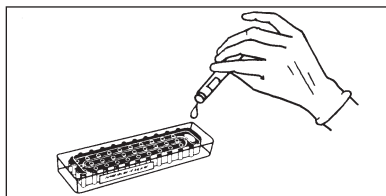
Taip pat reikalingos įprastinės laboratorijos priemonės ir indai, naudojami klinikiškiams bandiniams ruošti, saugoti ir tirti.

Tyrimo metodika. **BD BBL Crystal** N/H identifikavimo sistemai reikalingas tepinėlio įvertinimo pagal Gramo dažymą rezultatas.

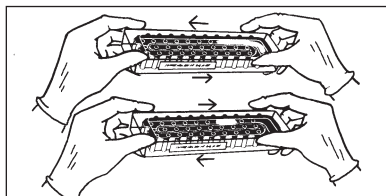
- 1. Dangtelius ištraukite iš maišelio. Išmeskite desikantą. Pašalintą iš maišelio dangtelį reikia panaudoti per 1 val. Pavelio, kurio maišelyje nėra desikanto, naudoti negalima.
- 2. Paimkite mėgintuvėlį su inokuliacijos skysčiu ir pažymėkite ant jo paciento bandinio numerį. Aseptiškai paimkite nuo vieno iš rekomenduojamų terpių (žr. „Bandinio paėmimas ir tyrimas“) vienodos morfologijos kolonijas steriliu vatos tamponėliu (*nenaudokite poliesterinio tampono*) arba mediniu aplikatoriumi.
- 3. Padarykite kolonijų suspensiją mėgintuvėlyje su **BD BBL Crystal** ANR, GP, RGP, N/H ID inokuliacijos skysčiu.
- 4. Uždarykite mėgintuvėlį ir maždaug 10–15 sekundžių pakratykite. Suspensijos drumstumas turi atitikti McFarland standartą Nr. 3. Jei suspensijos drumstumas yra didesnis, rekomenduojama imtis šių priemonių:
 - a. Paimkite naują inokuliacijos skysčio mėgintuvėlį ir pagaminkite naują suspensiją pagal McFarland standartą Nr.3.
 - 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 % sterilus fiziologinio tirpalo arba inokuliacijos skysčiu, kad drumstumas sumažėtų iki McFarland standarto Nr. 3. Skysčio perteklių pašalinkite sterilia pipete taip, kad mėgintuvėlyje liktų pradinis suspensijos tūris ($2,3 \pm 0,15$ mL). Jei nebus pasiektas pradinis inokuliacijos tūris, suspensija išsilies per pagrindo kraštus ir pavelio nebus galima naudoti.
- 5. Paimkite pagrindą ir ant šono pažymėkite paciento bandinio numerį.



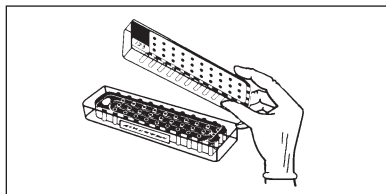
6. Supilkite visą inokuliatą į tam skirtą pagrindo vietą.



7. Laikydami pagrindą abiem rankom, švelniai paskirstykite inokuliatą po griovelį, kad užsipildytų visi jame esantys šulinėliai. Skysčio perteklių grąžinkite atgal į pradinę vietą, kur jis buvo išpiltas, ir padėkite pagrindą ant stalo. Kadangi **BD BBL Crystal N/H ID** panelyje naudojama didelė ląstelių koncentracija, inokuliatas turi būti paskirstytas taip, kad užpildytų visus šulinėlius. Prieš uždėdami dangtelį įsitikinkite, ar inokuliatas nėra tarp šulinėlių, ar jis iš skysčio įpylimo vietos nesklanda link šulinėlių.

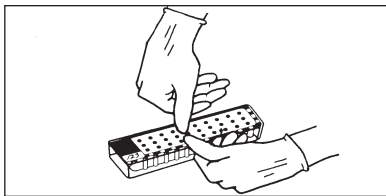


8. Uždėkite dangtelį taip, kad galas su etikete atsidurtų virš pagrinde esančios inokulianto įpylimo vietos.

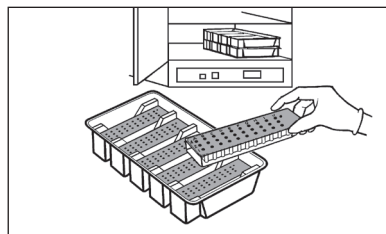


9. Stumtelkite dangtelį, kol pajusite silpną pasipriešinimą. Abiem nykščiais paspauskite dangtelį per vidurį iš šonų vienu metu taip, kad jis atsidurtų jam skirtoje vietoje (turi pasigirsti 2 „trakstelėjimai“).

Kolonijos grynumo lėkštelė. Kolonijos grynumo kontrolei sterilia kilpele paimkite nedidelį lašą inokulianto iš mėgintuvėlio prieš arba po užsėjimo į pagrindą ir pasėkite jį ant atitinkamos terpės (nuožulnaus agarą arba lėkštelės). Mėgintuvėlį nuo inokulianto su kamštelium išmeskite į biologiškai pavojingų atliekų konteinerį. Nuožulnųjį agarą arba lėkštelę inkubuokite 24–48 val. 35–37 °C atitinkamomis sąlygomis. Jei reikia kolonijas, išaugusias ant nuožulnaus agarą arba lėkštelės, galima panaudoti bet kokiems papildomiems tyrimams ar serologiniams tyrimams.

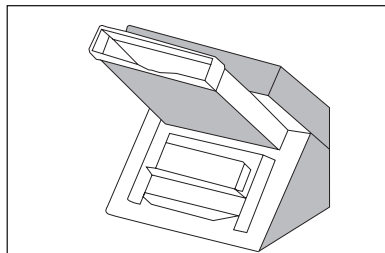


Inkubavimas. Inokuliuotus panelius sudėkite į inkubacijos lovėlius. Į vieną lovėlį telpa dešimt (dvi eilės po penkis) panelių. Visi paneliai turi būti inkubuojami **apversti** (didesniais langeliais į viršų, etikete žemyn) ne CO₂ 40–60 % **drėgnumo** inkubatoriuje. Lovelių negalima sudėti daugiau nei dviem aukštais. Panelio inkubavimo laikas 35–37 °C temperatūroje yra **4 val.** **PASTABA.** Inkubavimo metu kuo rečiau atidarinėkite inkubatoriaus duris (ne daugiau kaip 3 kartus). Ištrauktus iš inkubatoriaus panelius reikia įvertinti per 30 min.



Rezultatų įvertinimas. Praėjus rekomenduojamam inkubavimo laikui ištraukite panelius iš inkubatoriaus. Visi paneliai turi būti vertinami **apversti** (didesniais langeliais į viršų, etikete žemyn) ant **BD BBL Crystal** šviesos šaltinio. Reakcijų interpretavimui naudokite spalvinių reakcijų interpretavimo lentelę ir/ar 3 lenteles. Reakcijų duomenis įrašykite į rezultatų aplanką.

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



BD BBL Crystal 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 neigiama reakcija vertinama 0 (nuliui) balų. Balai, kuriais įvertinamos reakcijos, kiekviename stulpelyje sudedami. Gaunamas 10 skaitmenų numeris, kuris ir yra profilinis numeris.

	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) = neigiama fluorescencijos kontrolė

Gautas profilinis numeris ir mikrobo morfologijos duomenys, jei jie yra žinomi, turi būti įrašomi į kompiuterį, kuriame įdiegta **BD BBL Crystal** ID sistemos elektroninės kodų knygos programa, ir mikroorganizmas bus identifiкуotas. Galima naudotis ir kodų knyga. Jei kompiuteriu naudotis negalite, pagalbos identifiкуojant kreipkitės į BD techninės pagalbos tarnybą.

Naudotojo atliekama kokybės kontrolė. Kiekvienai panelių serijai rekomenduojama atlikti kokybės kontrolės procedūras šia tvarka:

- Užsėkite panelį *Moraxella (Branhamella) catarrhalis* ATCC 25240 kultūra taip, kaip nurodoma procedūros aprašyme (žr. „Tyrimo atlikimo metodiką“).
- Prieš inkubavimą leiskite paneliui pabūti kambario temperatūroje apie 1 min. (bet ne ilgiau kaip 2 min.).
- Įvertinkite ir užrašykite reakcijų rezultatus naudodamiesi šviesos šaltinio ir spalvinių reakcijų interpretavimo lentele.
- Jei nors vienas iš šulinėlių (išskyrus 1J) rodo teigiamą spalvos reakciją (praėjus 1–2 min.), šios serijos **PANELIŲ NENAUDOKITE**. Kreipkitės į BD techninės pagalbos tarnybą.
- Jei visi šulinėliai rodo neigiamą reakciją, inkubuokite panelį 4 val. 35–37 °C temperatūroje.
- Reakcijų rezultatus įvertinkite naudodamiesi šviesos šaltinio ir spalvinių reakcijų interpretavimo lentele, rezultatus užrašykite į rezultatų aplanką.
- Gautus rezultatus palyginkite su 4 lentelėje pateiktais rezultatais. Jei rezultatai skiriasi, prieš kreipdamiesi į BD techninės pagalbos tarnybą, įsitikinkite kontrolinės kultūros grynumu.
- Inkubavimo metu kuo rečiau atidarinkite inkubatoriaus duris (ne daugiau kaip 3 kartus).

Papildomai tiriamų kultūrų kokybės kontrolės rezultatai pateikiami 5 lentelėje.

PROCEDŪROS APRIBOJIMAI

BD BBL Crystal N/H ID sistema yra sukurta išvardytiems mikrobo taksonams. Ši sistema nenumatyta naudoti su 1 lentelėje nenurodytomis taksonų grupėmis.

Nustačius tokį mikroorganizmą, kaip *Neisseria gonorrhoeae*, patvirtinantys tyrimai reikalingi šiais atvejais: (1) kai teigiamas rezultatas nustatomas asmenims iš mažos rizikos grupių, (2) kai teigiamas rezultatas nustatomas pacientams sociologiniais ar teisinės medicinos tikslais.¹¹

BD BBL Crystal N/H ID duomenų bazė sukurta naudojant **BBL** firmos terpes. Tam tikrų substratų reaktyvumas miniatiūrinėse identifikavimo sistemose priklauso nuo inokulavimui naudojamos terpės šaltinio. Mes patariame su **BD BBL Crystal N/H ID** sistema naudoti šias terpes: šokolado spalvos agarą, **TSA II**, Columbia agarą ir Nutrient agarą. Taip pat galima naudoti selektyvias terpes: Martin-Lewis agarą, MTM, NYC terpę, V ir **GC-Lect** agarus. Negalima naudoti terpių, turinčių eskulino.

BD BBL Crystal identifikavimo sistemoje susidaro modifikuota mikroaplinka, todėl įvairių individualių tyrimų rezultatai gali skirtis nuo tų, kurie buvo gaunami įprastinių tyrimų reakcijų metu. **BD BBL Crystal N/H ID** sistemos tikslumas pagrįstas specialiai tam skirtų tyrimų statistiniu apdorojimu ir išskirtine duomenų baze.

Nors **BD BBL Crystal** N/H 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 nustatoma atsižvelgiant į bandinio šaltinį, aerotoleranciją, mikrobo morfologiją, kolonijos charakteristikas ant skirtingų terpių, taip pat, esant reikalui, pagal galinius medžiagų apykaitos produktus, nustatomus dujų ir skystio chromatografu.

Inokuliacijos suspensijos turi būti ruošiamos tik vatos tamponėliais, nes kai kurių poliesterinų tamponėlių naudojimas gali padidinti inokuliacijos klampumą. Dėl to šulinėliams užpildyti gali pritrūkti inokuliacijos skystis. Norint užtikrinti adekvačias reakcijas, atidarytus dangtelius reikia sunaudoti per 1 valandą. Naudojimo metu plastikinis dangtis turi būti ant panelio dangtelio.

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

Kad substratai būtų maksimaliai efektyvūs, po inokuliacijos paneliai turi būti inkubuojami tik **apversti** (didesniais langeliais į viršų, etikete žemyn).

Kolonijas reikia tirti nuo šokolado spalvos agarų, TSA, Columbia ir Nutrient agarų. Taip pat galima naudoti selektyvias terpes, pvz., Martin-Lewis agarą, MTM, NYC terpę, V ir **GC-Lect** agarus.

Jei tiriant **BD BBL Crystal**, profilinis numeris rodo identifikavimo nebuvimą, ir buvo įrodytas kultūros grynumas, tuomet gali būti, kad: i) tirama kolonija duoda *atipinius* **BD BBL Crystal** sistemai rezultatus (tai gali būti procedūrinių pažeidimų padarinius), ii) tirama kultūra nepriklauso panelio taksonomijai arba iii) šia sistema neįmanoma identifikuoti tiriamos kultūros su pakankamu patikimumo lygiu. Atmetus naudojimo klaidas, identifikavimą reikėtų tęsti įprastais metodais.

4 lentelė.

BD BBL Crystal N/H ID sistemos kokybės kontrolės lentelė. Po 4 val. inkubacijos nuo šokolado spalvos agarų

Vieta panelyje	Substratas	Kodas	<i>Moraxella</i> (<i>Branhamella</i>) <i>catarrhalis</i> ATCC 25240	
4A	Neigiamą fluorescencijos kontrolė	FCT	-	
2A	4MU-fosfatas	FHO	-	
1A	L-prolino-AMC	FPR	-	
4B	L-serino-AMC	FSE	+	
2B	LYS-ALA-AMC	FLA	v	
1B	L-triptofano-AMC	FTR	v	
4C	L-fenilalanino-AMC	FPH	+	
2C	N-sukcinil-ALA-PRO-ALA-AMC	FNS	+	
1C	ALA-ALA-PHE-AMC	FAA	+	
4D	L-gliutamato-AMC	FTA	-	
2D	L-arginino-AMC	FAR	v	
1D	Ornitino-AMC	FOR	v	
4E	Glicino -AMC	FGL	+	
2E	GLY-PRO-AMC	FGP	-	
1E	4MU-β-D-galaktozidas	FBG	-	
4F	Sacharozė	SAC	-	
2F	Maltotriozė	MTT	-	
1F	Karubinozė	CAR	-	
4G	Piranozė	PYO	-	
2G	Maltobiozė	MTB	-	
1G	Disacharidas	DIS	-	
4H	Riberolis	RBL	-	
2H	Levuliozė	LEV	-	
1H	paranitrofenilfosforilcholinis	PHC	-	
4I	γ-L-gliutamilparanitroanilidas	GGL	-	
2I	paranitrofenilfosfatas	PHO	-	
1I	o-nitrofenil-β-D-galaktozidas (ONPG)	OPG	-	
4J	Šlapalas	URE	-	
2J	Resazurinas	REZ	+	
1J	Ornitas	ORN	v	

5 lentelė.

BD BBL Crystal N/H ID sistemos papildoma kokybės kontrolės lentelė.

Po 4 val. inkubacijos nuo šokolado spalvos agaro.

Vieta panelyje	Substratas	Kodas	<i>Haemophilus aphrophilus</i> ATCC 19415	<i>Neisseria lactamica</i> ATCC 49142	<i>Kingella denitrificans</i> ATCC 33394	<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 35056
4A	Neigiama fluorescencijos kontrolė	FCT	-	-	-	-
2A	4MU-fosfatas	FHO	+	-	-	+
1A	L-prolino-AMC	FPR	-	+	+	-
4B	L-serino-AMC	FSE	v	+	+	v
2B	LYS-ALA-AMC	FLA	-	v	v	v
1B	L-triptofano-AMC	FTR	v	+	+	v
4C	L-fenilalanino-AMC	FPH	+	+	+	v
2C	N-sukcinių-ALA-PRO-ALA-AMC	FNS	-	-	-	-
1C	ALA-ALA-PHE-AMC	FAA	v	+	v	v
4D	L-gliutamato-AMC	FTA	+	-	-	-
2D	L-arginino-AMC	FAR	v	+	v	+
1D	Ornitino-AMC	FOR	-	+	v	-
4E	Glicino -AMC	FGL	+	+	+	+
2E	GLY-PRO-AMC	FGP	-	v	+	-
1E	4MU-β-D-galaktozidas	FBG	+	+	-	-
4F	Sacharozė	SAC	+	-	-	-
2F	Maltotriozė	MTT	+	-	-	-
1F	Karubinozė	CAR	v	-	-	-
4G	Piranozė	PYO	+	v	-	v
2G	Maltobiozė	MTB	+	v	-	-
1G	Disacharidas	DIS	+	-	-	-
4H	Riberolis	RBL	v	-	-	-
2H	Levuliozė	LEV	+	-	-	-
1H	paranitrofenilfosforilcholinis	PHC	v	-	-	+
4I	γ-L-gliutamilparanitroanilidas	GGL	+	-	-	-
2I	paranitrofenilfosfatas	PHO	+	-	-	+
1I	o-nitrofenil-β-D-galaktozidas (ONPG)	OPG	+	+	-	-
4J	Šlapalas	URE	-	-	-	+
2J	Resazurinas	REZ	v	-	v	-
1J	Ornitas	ORN	v	v	v	+

VEIKIMO CHARAKTERISTIKOS

Rezultatų atkuriamumas. Išorinio tyrimo 3 klinikinėse laboratorijose metu buvo tiriamas BD BBL Crystal N/H ID substratų (29) reakcijų atkartojamumas replikuoto tyrimo būdu. Individualių substratų reakcijų atkartojamumas svyravo nuo 85,7 % iki 100 %. Buvo nustatyta, kad bendras BD BBL Crystal N/H ID panelio atkartojamumas yra lygus 95,9 %.²²

Identifikacijos tikslumas. Naudojant iš klinikinių tyrimų vietų išskirtas grynąsias kultūras ir standartines kultūras, BD BBL Crystal N/H ID sistema buvo palyginta su šiuo metu naudojamomis komercinėmis sistemomis. Buvo atlikti 3 tyrimai trijose nepriklausomose laboratorijose. Vertinant veikimo charakteristikas buvo tiriami j klinikines laboratorijas įprastu būdu patenkantys bandiniai, taip pat iš anksto identifikuoti mikrobų izoliatai iš klinikinių tyrimų vietų.

Trijų tyrimų metu iš tirtų 513 izoliatų, kuriuos laboratorijos tyrė BD BBL Crystal N/H identifikavimo sistema, teisingai buvo įvertinta 459 (89,5 %) izoliatų be papildomo tyrimo, o papildomai ištyrus – 480 (93,6 %). Neteisingai buvo įvertinti 26 (5,1 %) izoliatai ir be identifikavimo liko 7 (1,4 %) izoliatai.²²

GALIMYBE UŽSAKYTI

Kat. Nr.	Aprašymas	Kat. Nr.	Aprašymas
245130	BD BBL Crystal <i>Neisseria/Haemophilus</i> ID Kit, 1.	221557	BD BBL Martin-Lewis Agar, pakuotėje yra 20 vnt.
245038	BD BBL Crystal ANR, GP, RGP, N/H ID Inoculum Fluid, dėž. yra 10 vnt.	221558	BD BBL Martin-Lewis Agar, dėž. yra 100 vnt.
245031	BD BBL Crystal Panel Viewer, amerikietiškas modelis, 110 V, 60 Hz.	297173	BD BBL New York City (NYC) Medium Modified, pakuotėje yra 20 vnt.
245032	BD BBL Crystal Panel Viewer, europinis modelis, 220 V, 50 Hz.	297801	BD BBL Nutrient Agar, pakuotėje yra 10 vnt.
245033	BD BBL Crystal Panel Viewer, japoniškas modelis, 100 V, 50/60 Hz.	221567	BD BBL Thayer-Martin, Modified (MTM II) Agar, pakuotėje yra 20 vnt.
245034	BD BBL Crystal Panel Viewer, UV šviesos šaltinis.	221568	BD BBL Thayer-Martin, Modified (MTM II) Agar, dėž. yra 100 vnt.
245036	BD BBL Crystal Panel Viewer, Dienes šviesos šaltinis.	221239	BD BBL Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood (TSA II), pakuotėje yra 20 vnt.
245035	BD BBL Crystal Identification Systems <i>Neisseria/Haemophilus</i> Manual Codebook.	221261	BD BBL Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood (TSA II), dėž. yra 100 vnt.
221169	BD BBL Chocolate II Agar (GC II Agar with Hemoglobin and IsoVitaleX), pakuotėje yra 20 vnt.	221874	BD BBL V Agar (skirta <i>G. vaginalis</i>), pakuotėje yra 10 vnt.
221267	BD BBL Chocolate II Agar (GC II Agar with Hemoglobin and IsoVitaleX), dėž. yra 100 vnt.	221875	BD BBL V Agar (skirta <i>G. vaginalis</i>), pakuotėje yra 100 vnt.
221165	BD BBL Columbia Agar with 5% Sheep Blood, pakuotėje yra 20 vnt.	297715	BD BBL GC-Lect Agar, pakuotėje yra 20 vnt.
221263	BD BBL Columbia Agar with 5% Sheep Blood, dėž. yra 100 vnt.	297928	BD BBL GC-Lect Agar, dėž. yra 100 vnt.
		212539	BD BBL Gram Stain Kit, pakuotėje 4 x 250 mL buteliukai.

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., L.R. Peterson and S.M. Finegold. 1994. Bailey and Scott's diagnostic microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis.
3. Bronfenbrenner, J., and M.J. Schlesinger. 1918. A rapid method for the identification of bacteria fermenting carbohydrates. Am. J. Public Health. 8:922-923.
4. Cowan, S.T., and K.J. Steel. 1974. Manual for the identification of medical bacteria. 2nd ed. Cambridge University Press, Cambridge.
5. Edberg, S.C., and C.M. Konnick. 1986. Comparison of β -glucuronidase-based substrate systems for identification of *Escherichia coli*. J. Clin. Microbiol. 24:368-371.
6. Enriquez, L.A., and N.E. Hodinka. 1983. The development of a test system for the rapid differentiation of *Neisseria* and *Haemophilus*. J. Clin. Microbiol. 18:1032-1039.
7. Ferguson, W.W., and A.E. Hook. 1943. Urease activity of *Proteus* and *Salmonella* organisms. J. Lab. Clin. Med. 28:1715-1720.
8. Hartman, P.A. 1968. Miniaturized microbiological methods. Academic Press, New York.
9. Kampf, P., O. Rauhoff, and W. Dott. 1991. Glycosidase profiles of members of the family *Enterobacteriaceae*. J. Clin. Microbiol. 29:2877-2879.
10. Killian, M., and P. Bulow. 1976. Rapid diagnosis of *Enterobacteriaceae* 1: detection of bacterial glycosidases. Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sect. B. 84:245-251.
11. Knapp, J.S., and R.J. Rice. 1995. *Neisseria* and *Branhamella*, p. 324-340. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
12. MacFaddin, J.F. 1980. Biochemical tests for identification of medical bacteria, 2nd ed. Williams & Wilkins, Baltimore.
13. Maddocks, J.L., and M. Greenan. 1975. Rapid method for identifying bacterial enzymes. J. Clin. Pathol. 28:686-687.
14. Manafi, M., W. Kneifel, and S. Bascomb. 1991. Fluorogenic and chromogenic substrates used in bacterial diagnostics. Microbiol. Rev. 55:335-348.
15. 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.
16. 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.
17. 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.
18. Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.). 1995. Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
19. 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.
20. Sneath, P.H.A. 1957. The application of computers to taxonomy. J. Gen. Microbiol. 17:201-221.
21. Soto, O.B. 1949. Fermentation reactions with dried paper discs containing carbohydrate and indicator. Puerto Rican J. Public Health. Trop. Med. 25:96-100.
22. Data on file at BD Diagnostics.

Techninis aptarnavimas ir palaikymas iš „BD Diagnostics“: už JAV ribų susisieki su vietos BD atstovu arba apsilankykite www.bd.com/ds.



Manufacturer / Производител / Výrobce / Fabrikant / Hersteller / Κατασκευαστής / Fabricante / Tootja / Fabricant / Produzovateľ / Gyártó / Fabricante / Аҳаркуш / Gamintojas / Ražotājs / Tilvirkir / Producent / Producător / Производител / Výrobca / Produzovateľ / Tilverkare / Üretici / Виробник



Use by / Исполняйте до / Spøtfebtje do / Brug før / Verwendbar bis / Χρήση έως / Usar antes de / Kasutada enne / Date de péremption / Upotrijebiti do / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Δείν πайданаура / Naudokite iki / Izlietot līdz / Houdbaar tot / Brukes før / Stosować do / Prazo de validade / A se utiliza până la / Исползовать до / Použít do / Upotrebiti do / Använd före / Son kullanna tarihi / Використати до line
 YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month)
 ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = края на месеца)
 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 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 månaden)
 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-ДД / PPPP-MM (ММ = кінець місяця)



Catalog number / Каталоген номер / Katalogové číslo / Katalognummer / Αριθμός καταλόγου / Número de catálogo / Katalognummer / Numéro catalogue / Kataloški broj / Katalógusszám / Numero di catalogo / Katalog nemiří / Katalogo numeris / Kataloga numurs / Catalogus nummer / Numer katalogowy / Număr de catalog / Номер по каталогу / Katalogové číslo / Kataloški broj / Katalog numarasi / 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 / Autorisierter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Reprezentante autorizado en la Comunidad Europea / Volitatus 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 қауымдастығындағы уәкілетті екін / Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / Pilnvarotais pārstāvis Eiropas Kopienā / Bevoegde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap / Autoriseret representant i EU / Autoryzowane przedstawicielstwo we Wspólnocie Europejskiej / Reprezentante autorizado na Comunidade Europeia / Reprezentant autorizat pentru Comunitatea Europeană / Уполномоченный представитель в Европейском сообществе / Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve / Autorizovano predstavnstvo u Evropskoj uniji / Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen / Автура Топлулуğu Yetkili Temsilcisi / Уповноважений представник у країнах ЄС



In vitro Diagnostic Medical Device / Медицински уред за диагностика *in vitro* / Lékařské zařizení určené pro diagnostiku *in vitro* / *In vitro* diagnostisk medicinsk anordning / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / *In vitro* διαγνωστική ιατρική συσκευή / Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro* / *In vitro* diagnostika meditsiniparatuur / Dispositif médical de diagnostic *in vitro* / Medicinska pomagala za *In vitro* Dijagnostiku / *In vitro* diagnosztikai orvosi eszköz / Dispositivo medicale per diagnostica *in vitro* / Жасанды жағдайда жүргізілетін медициналық диагностика аспабы / *In vitro* diagnostikos prietaisas / Medicīnas ierīces, ko lieto *in vitro* diagnostikā / Medisch hulpmiddel voor *in-vitro* diagnostiek / *In vitro* diagnostisk medicinsk udstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki *in vitro* / Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro* / Dispozitiv medical pentru diagnostic *in vitro* / Медицинский прибор для диагностики *in vitro* / Medicinska pomůcka na diagnostiku *in vitro* / Medicinski uređaj za *in vitro* dijagnostiku / Medicinteknisk produkt för *in vitro*-diagnostik / *In Vitro* Dijagnostik Tibbi Cihaz / Медицинский прибор для диагностики *in vitro*



Temperature limitation / Температурни ограничения / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning / Temperaturbegrenzung / Περιορισμοί θερμοκρασίας / Limitación de temperatura / Temperaturi pīrang / Limites de température / Dozvoljena temperatura / Hőmérséklet határ / Limiti di temperatura / Температураны шектегі / Laikymo temperatūra / Temperatūras ierobežojumi / Temperaturilimit / Temperaturbegrænsning / Ograniczenie temperatury / Limites de temperatura / Limite de temperatură / Ograničenje temperature / 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 kood / Numéro de lot / Lot (kod) / Tétel száma (Lot) / Codice batch (lotto) / Топтама коды / Partijos numeris (LOT) / Partijas kods (laidiens) / Lot number / Batch-code (party) / Kod partii (serie) / Código do lote / Cod de serie (Lot) / Код партии (not) / 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 / Lugea kasutusjuhendit / Consulter la notice d'emploi / Koristi upute za upotrebu / Olvassa el a használati útastást / Consultare le istruzioni per l'uso / Лайдалану нұсқаулығымен танысып алыңыз / Skaitykite naudojimo instrukcijas / Skatīt lietošanas pamācību / Raadpleeg de gebruiksaanwijzing / Se i bruksanvisningen / Zobacz instrukcja użytkowania / Consultar as instruções de utilização / Consultati instrucțiunile de utilizare / См. руководство по эксплуатации / Pozri Pokyny na používanie / Pogledajte uputstvo za upotrebu / Se bruksanvisningen / Kullanım Talimatları'na başvurun / Див. інструкції з використання



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



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

Australian Sponsor:

Becton Dickinson Pty Ltd.
4 Research Park Drive
Macquarie University Research Park
North Ryde, NSW 2113
Australia

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

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