

BD Sustavi za identifikaciju BBL Crystal Anaerobe ID Kit

 8809491JAA(02)
2014-07
Hrvatski

NAMJENA

BBL Crystal Anaerobe (ANR) Identification (ID) System (Anaerobni sustav za identifikaciju **BBL Crystal**) umanjena je metoda identifikacije koja uključuje modificirane konvencionalne, fluorogenske i kromogenske supstrate. Namijenjen je za identifikaciju često izoliranih anerobnih bakterija.¹⁻⁹

SAŽETAK I OBJAŠNJENJE

Još 1918. zabilježena je primjena mikrometoda za biokemijsku identifikaciju mikroorganizama.¹⁰ U nekoliko je publikacija opisana primjena papirnatih diskova impregniranih reagensima odnosno metoda s mikroepruvetama za prepoznavanje crijevnih bakterija.¹⁰⁻¹⁴ Zanimanje za ovako sitne sustave identifikacije dovelo je 1960-ih do razvoja nekoliko komercijalnih sustava kojima je prednost bila mali prostorni zahtjevi, produljeni vijek trajanja, standardizirana kontrola kvalitete i lakoća primjene.

Općenito, veliki dio ispitivanja koja se koriste u sustavima **BBL Crystal ID** izmijenjene su klasične metode. Ona obuhvaćaju ispitivanja za fermentaciju, oksidaciju, degradaciju i hidrolizu raznih supstrata. Osim toga, postoje supstrati povezani kromogenom i fluorogenom, kao što je ploča **BBL Crystal ANR ID** za otkrivanje enzima koje koriste mikrobi za metaboliziranje raznih supstrata.^{12, 15-22}

Komplet **BBL Crystal ANR ID** sastoji se od (i) **BBL Crystal ANR ID** panel lids (poklopaca ploče), (ii) **BBL Crystal** bases (baza) i (iii) **BBL Crystal ANR, GP, RGP, N/H ID Inoculum Fluid (IF)** tubes (epruveta s inokulacijskom tekućinom). Poklopac sadrži 29 dehidriranih supstrata i kontrolu fluorescencije na vrhovima plastičnih zubaca. Baza ima 30 reakcijskih udubljenja. Inokulum za ispitivanje priprema se s inokulacijskom tekućinom, a koristi se za 30 udubljenja u bazi. Kada se poklopac poravnava s bazom i čvrsto zatvori, inokulum za ispitivanje rehidrira osušene supstrate i počinju reakcije ispitivanja.

Nakon perioda inkubacije treba provjeriti promjenu boje udubljenja ili prisutnost fluorescencije koja nastaje zbog metaboličke aktivnosti mikroorganizama. Uzorak rezultata 29 reakcija konvertira se u deseteroznamenasti broj profila koji se koristi kao baza za identifikaciju.²³ U bazi podataka **BBL Crystal ANR ID** pohranjuju se biokemijski i enzimski uzorci reakcija za 29 supstrate **BBL Crystal ANR ID** s velikom raznolikošću mikroorganizama. Identifikacija se izvodi iz komparativne analize uzorka reakcije izolata za ispitivanje s onima pohranjenima u bazi podataka. Cjeloviti popis vrsta koji predstavlja trenutnu bazu podataka naveden je u Tablici 1.

NAČELA POSTUPKA

Ploče **BBL Crystal ANR ID** sadrže 29 suhih biokemijskih i enzimskih supstrata. Za rehidraciju supstrata koristi se bakterijska otopina u inokulacijskoj tekućini. Ispitivanja koja se koriste u sustavu temelje na pokazateljima kako pojedini mikrobi koriste i razgrađuju pojedine supstrate. Enzimska hidroliza fluorogenih supstrata koji sadrže derivate kumarina od 4-metilumbeliferona (4MU) ili 7-amino-4-metilumarina (7-AMC) izaziva povećanu fluorescenciju koja se lako vizualno¹⁵⁻¹⁹ otkriva pomoću ultraljubičastog izvora svjetlosti.¹⁹⁻²¹ Kromogeni supstrati nakon hidrolize mijenjaju boju što se može vizualno otkriti. Osim toga, u sustavima **BBL Crystal ID** postoje i druga ispitivanja koja otkrivaju sposobnost organizma da hidrolizira, razgradi, reducira ili na drugi način koristi supstrat.

Reakcije s različitim supstratima i kratko objašnjenje načela korištenih u sustavu opisani su u tablici 2. Smještaj na ploči označava red i stupac u kojoj se nalazi udubljenje (primjer: 1J odnosi se na red 1 u stupcu J).

Tablica 1

Vrste u sustavu BBL Crystal ANR ID

Gram negativni bacili

Tolerantni na žuč

Grupa *Bacteroides fragilis*

B. caccae

Grupa *B. distasonis*¹⁰

B. eggerthii

B. fragilis

B. ovatus

B. stercoris

B. thetaiotaomicon

B. uniformis

B. vulgatus

Ostali:

B. splanchnicus

*Porphyromonas levii*¹¹

Osjetljivi na žuč pigmentirani

Vrste *Capnocytophaga*

Prevotella

P. corporis

P. denticola

P. intermedia

P. loeschei

P. melaninogenica

Porphyromonas

P. asaccharolytica

P. endodontalis

P. gingivalis

Osjetljivi na žuč

ne pigmentirani

Prevotella

P. bivia

P. buccae

P. buccalis

P. disiens

P. oralis

P. oris

*P. veroralis*¹¹

Ne pigmentirani,

ne korodiraju

Bacteroides

B. capillosus

Tissierella

T. praeacuta

Tolerantni na žuč

ne pigmentiraju

Bilophila

B. wadsworthia

Desulfomonas

D. pigra

Vrste *Desulfovibrio*

Campylobacter

C. curvus/rectus

Ne pigmentirani,

Korodiraju

Bacteroides

B. ureolyticus

Campylobacter

C. gracilis

Fusobacterium

F. gonidiaformans^{1,11}

F. mortiferum

F. necrophorum

F. nucleatum

F. russii

F. varium

Leptotrichia

L. buccalis

Ključ: 1 = Vrsta samo u bazi podataka **BBL Crystal**, **BBL** Schaedler.

2 = Vrsta samo u bazama podataka **BBL Crystal**, **BBL** Schaedler i **BBL Crystal** s drugim krvnim agarom.

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

4 = Ove vrste imaju < 10 jedinstvenih profila **BBL Crystal** u trenutačnoj bazi podataka.

Clostridia	Gram pozitivni bacili koji ne stvaraju spore	Gram pozitivni koki
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>	Vrsta <i>B.</i>	<i>S. saccharolyticus</i>
<i>C. novyi A</i>	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>	Gram negativni koki
<i>C. ramosum</i>	Mobiluncus	Vrsta <i>Veillonella</i>
<i>C. septicum</i>	<i>M. curtisii</i>	
<i>C. sordellii</i>	<i>M. mulieris</i>	
<i>C. sphenoides</i>	Vrsta <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>	

Tablica 2

Načela ispitivanja korištena u sustavu BBL Crystal ANR ID

Smještaj na ploči	Značajka ispitivanja	Kod	Načelo (Referenca)
4A	Negativna kontrola fluorescencije	FCT	Kontrola za standardizaciju rezultata fluorescentnog supstrata.
2A	L-arginin-AMC	FAR	Enzimska hidroliza amidne ili glikozidne veze dovodi do otpuštanja fluorescentnoga kumarinskoga derivata. ¹⁹⁻²¹
1A	L-histidin-AMC	FHI	
4B	4MU- α -D-manozid	FAM	
2B	L-serin-AMC	FSE	
1B	L-izoleucin-AMC	FIS	
4C	4MU- β -D-manozid	FBM	
2C	Glicin-AMC	FGL	
1C	L-alanin-AMC	FAL	
4D	4MU-N-acetil- β -D-galaktozaminid	FGA	
2D	L-piroglutaminska kiselina-AMC	FPY	
1D	L-lizin-AMC	FLY	
4E	L-metionin-AMC	FME	
2E	4MU- β -D-celobiopiranozid	FCE	
1E	4MU- β -D-ksilozid	FXY	
4F	L-fenilalanin-AMC	FPH	
2F	L-leucin-AMC	FLE	
1F	Eskozil	FSC	Hidroliza glikozidne veze dovodi do oslobađanja esculetina koji nije fluorescentan. ²²
4G	Disaharid	DIS	Upotreba ugljikohidrata uzrokuje nižu pH vrijednost i promjenu indikatora (fenol crvena). ^{1,2,11,12}
2G	Furanoza	FUR	
1G	Piranoza	PYO	
4H	p-nitrofenil- α -D-galaktozid	AGA	Enzimska hidroliza bezbojnog aril supstituiranog glikozida oslobađa žuti p-nitrofenol. ¹⁵⁻¹⁹
2H	p-nitrofenil- β -D-galaktozid	NPG	
1H	p-nitrofenil-fosfat	PHO	
4I	p-nitrofenil- α -D-glukozid	AGL	
2I	p-nitrofenil-N-acetil glukozaminid	NAG	
1I	L-prolin-p-nitroanilid	PRO	Enzimska hidroliza bezbojnog amidnog supstrata oslobađa žuti p-nitroanilin. ¹⁵⁻¹⁹
4J	p-nitrofenil- α -L-fukozid	AFU	Enzimska hidroliza bezbojnog aril supstituiranog glikozida oslobađa žuti p-nitrofenol. ¹⁵⁻¹⁹
2J	p-nitrofenil- β -D-glukozid	BGL	
1J	L-alanil-L-alanin-p-nitroanilid	ALA	Enzimska hidroliza bezbojnog amidnog supstrata oslobađa žuti p-nitroanilin. ¹⁵⁻¹⁹

REAGENCI

Ploča **BBL Crystal ANR** ID sadrži 29 enzimskih i biokemijskih supstrata. U donjoj tablici potražite popis aktivnih sastojaka.

Таблица 3

Реагенти, използвани в система **BBL Crystal ANR ID**

Smještaj na ploči	Supstrat	Kod	Poz.	Neg.	Aktivni sastojci	Pribl. količina (g/L)
4A	Negativna kontrola fluorescencije	FCT	n/a	n/a	Fluorescentni kumarinski derivat	≤1
2A	L-arginin-AMC	FAR	plava fluorescencija > FCT udubljenje	plava fluorescencija ≤ FCT udubljenje	L-arginin-AMC	≤1
1A	L-histidin-AMC	FHI	plava fluorescencija > FCT udubljenje	plava fluorescencija ≤ FCT udubljenje	L-histidin-AMC	≤1
4B	4MU-α-D-manozid	FAM	plava fluorescencija > FCT udubljenje	plava fluorescencija ≤ FCT udubljenje	4MU-α-D-manozid	≤1
2B	L-serin-AMC	FSE	plava fluorescencija > FCT udubljenje	plava fluorescencija ≤ FCT udubljenje	L-serin-AMC	≤1
1B	L-izoleucin-AMC	FIS	plava fluorescencija > FCT udubljenje	plava fluorescencija ≤ FCT udubljenje	L-izoleucin-AMC	≤1
4C	4MU-β-D-manozid	FBM	plava fluorescencija > FCT udubljenje	plava fluorescencija ≤ FCT udubljenje	4MU-β-D-manozid	≤1
2C	Glicin-AMC	FGL	plava fluorescencija > FCT udubljenje	plava fluorescencija ≤ FCT udubljenje	Glicin-AMC	≤1
1C	L-alanin-AMC	FAL	plava fluorescencija > FCT udubljenje	plava fluorescencija ≤ FCT udubljenje	L-alanin-AMC	≤1
4D	4MU-N-acetil-β-D-galaktozaminid	FGA	plava fluorescencija > FCT udubljenje	plava fluorescencija ≤ FCT udubljenje	4MU-N-acetil-β-D-galaktozaminid	≤1
2D	L-piroglutaminska kiselina-AMC	FPY	plava fluorescencija > FCT udubljenje	plava fluorescencija ≤ FCT udubljenje	L-piroglutaminska kiselina-AMC	≤1
1D	L-lizin-AMC	FLY	plava fluorescencija > FCT udubljenje	plava fluorescencija ≤ FCT udubljenje	L-lizin-AMC	≤1
4E	L-metionin-AMC	FME	plava fluorescencija > FCT udubljenje	plava fluorescencija ≤ FCT udubljenje	L-metionin-AMC	≤1
2E	4MU-β-D-celobiopiranozid	FCE	plava fluorescencija > FCT udubljenje	plava fluorescencija ≤ FCT udubljenje	4MU-β-D-celobiopiranozid	≤1
1E	4MU-β-D-ksilozid	FXY	plava fluorescencija > FCT udubljenje	plava fluorescencija ≤ FCT udubljenje	4MU-β-D-ksilozid	≤1
4F	L-fenilalanin-AMC	FPH	plava fluorescencija > FCT udubljenje	plava fluorescencija ≤ FCT udubljenje	L-fenilalanin-AMC	≤1
2F	L-leucin-AMC	FLE	plava fluorescencija > FCT udubljenje	plava fluorescencija ≤ FCT udubljenje	L-leucin-AMC	≤1
1F	Eskozil*	FSC	Plavo/zelena fluorescencija > FCT udubljenje	Plavo/zelena fluorescencija ≤ FCT udubljenje	Eskozil	≤1
4G	Disaharid	DIS	Zlatno/žuta	Narančasto/crvena	Disaharid	≤300
2G	Furanoza	FUR	Zlatno/žuta	Narančasto/crvena	Furanoza	≤300
1G	Piranoza	PYO	Zlatno/žuta	Narančasto/crvena	Piranoza	≤300
4H	p-n-p-α-D-galaktozid	AGA	Žuta	Bezbojna	p-n-p-α-D-galaktozid	≤7
2H	p-n-p-β-D-galaktozid	NPG	Žuta	Bezbojna	p-n-p-β-D-galaktozid	≤7
1H	p-n-p-fosfat	PHO	Žuta	Bezbojna	p-n-p-fosfat	≤7
4I	p-n-p-α-D-glukozid	AGL	Žuta	Bezbojna	p-n-p-α-D-glukozid	≤7
2I	p-n-p-N-acetil-glukozaminid	NAG	Žuta	Bezbojna	p-n-p-N-acetil-glukozaminid	≤7
1I	L-prolin-p-nitroanilid	PRO	Žuta	Bezbojna	L-prolin-p-nitroanilid	≤7
4J	p-n-p-α-L-fukozid	AFU	Žuta	Bezbojna	p-n-p-α-L-fukozid	≤7
2J	p-n-p-β-D-glukozid	BGL	Žuta	Bezbojna	p-n-p-β-D-glukozid	≤7
1J	L-alanil-L-alanin-p-nitroanilid	ALA	Žuta	Bezbojna	L-alanil-L-alanin-p-nitroanilid	≤7

*Supstrat eskozil fluorescentan je bez hidrolize. Fluorescencija će se smanjiti s prisutnošću enzima.

Mjere opreza: *in vitro* dijagnostika

Nakon upotrebe, svi zarazni materijali, uključujući pločice, štapiće s vatom, epruvete s inokulumom, filter papire koji se koriste za ispitivanja s indolom i ploče treba sterilizirati u autoklavu prije bacanja ili spaljivanja.

ČUVANJE I RUKOVANJE/ROK VALJANOSTI

Poklopci: Poklopci su pakirani pojedinačno, čuvaju se u hladnjaku na temperaturi od 2 – 8 °C i ne smiju biti otvoreni. NE ZAMRZAVAJTE. Vizualno provjerite ima li na foliji pakiranja rupa ili pukotina. Nemojte koristiti ako pakiranje izgleda oštećeno. Ako se čuvaju kao što je preporučeno, poklopci će u originalnom pakiranju zadržati očekivanu reaktivnost do isteka roka valjanosti.

Baze: Baze se pakiraju u dva kompleta od deset komada, u inkubacijskim ladicama **BBL Crystal**. Baze su prilikom slaganja okrenute prema dolje kako bi se maksimalno smanjilo zagađivanje iz zraka. Pohranite ih u okruženju bez prašine na temperaturi od 2 – 25 °C, dok ne budu spremne za upotrebu. Čuvajte neiskorištene baze u ladici, u plastičnoj vrećici. Prazne ladice treba koristiti za inkubaciju ploča.

Inokulacijska tekućina: Inokulacijska tekućina (IF) **BBL Crystal** ANR, GP, RGP, N/H ID pakira se u dva kompleta od deset epruveta. Vizualno pregledajte ima li na epruvetama pukotina, da li cure itd. Nemojte ih koristiti ako vam se čini da cure, ako su epruveta ili čep oštećeni ili ima vidljivih tragova kontaminacije (npr. zamagljenost, замуćenost). Epruvete pohranite na 2 – 25 °C. Rok isteka valjanosti naveden je na naljepnici na epruveti. S pločama **BBL Crystal** ANR treba koristiti samo inokulacijsku tekućinu **BBL Crystal** ANR, GP, RGP, N/H.

Po prijemu komplet **BBL Crystal** ANR ID pohranite na temperaturi od 2 – 8 °C. Nakon otvaranja samo poklopce treba pohraniti na 2 – 8 °C. Preostale dijelove kompleta može se čuvati na temperaturi od 2 – 25 °C. Ako se komplet ili neka njegova komponenta drže u hladnjaku, prije upotrebe treba pričekati dok ne dostignu sobnu temperaturu.

PRIKUPLJANJE I OBRAĐA UZORAKA

Sustavi **BBL Crystal** ID nisu za direktnu upotrebu s kliničkim uzorcima. Koristite izolate iz neselektivne podloge krvnog agara kao što su CDC Anaerobe Blood Agar, Brucella Blood Agar, Columbia Blood Agar ili Schaedler Blood Agar. Ispitni izolat mora biti čista kultura, za većinu rodova ne smije biti starija od 24 – 48 h; za neke koke koji sporije rastu (do 72 h) i vrstu *Actinomyces* (72 – 96 h) prihvatljive su i starije kulture. Za pripremu otopine inokuluma treba koristiti štapiće s vrhom od vate jer neki štapići od poliestera mogu uzrokovati probleme u inokulaciji ploča. (Pogledajte „Ograničenja postupka“.) Nakon što se poklopci izvade iz zapečaćenih vrećica, mora ih se upotrijebiti unutar 1 h kako bi se osiguralo odgovarajuće radne značajke. Plastični pokrov treba ostati na poklopcu do upotrebe.

Inkubator koji se koristi mora biti ovlažen kako bi se spriječilo isparavanje tekućine iz udubljenja tijekom inkubacije. Preporučeni stupanj vlažnosti je 40 – 60%. Kvaliteta samih uzoraka direktno utječe na upotrebljivost sustava **BBL Crystal** ID ili bilo kojeg drugog dijagnostičkog postupka koji se izvodi na kliničkim uzorcima. Osobito preporučujemo da laboratoriji koriste metode opisane u *Priručniku za kliničku mikrobiologiju* za prikupljanje uzoraka, transport i stavljanje na primarne podloge za izolaciju.¹ Osim toga preporučujemo i literaturu vezanu za rukovanje anaerobnim uzorcima *Priručnik za anaerobnu bakteriologiju* Wadsworth⁹ i *Načela i praksa kliničke anaerobne bakteriologije*.³

POSTUPAK ISPITIVANJA

Priloženi materijal: **BBL Crystal** ANR ID Kit –

20 **BBL Crystal** Anaerobe ID Panel Lids,

20 **BBL Crystal** Bases,

20 **BBL Crystal** ANR, GP, RGP, N/H ID Inoculum Fluid Tubes. Svaka epruveta s približno 2,3 ± 0,15 mL inokulacijske tekućine sadrži: KCl 7,5 g, CaCl₂ 0,5 g, triclin N-[2-hidroksi-1, 1-bis (hidroksimetil)metil] glicin 0,895 g, pročišćenu vodu do 1000 mL.

2 inkubacijske ladice,

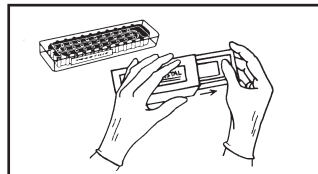
1 **BBL Crystal** ANR ID Report Pad.

Materijal koji se nabavlja zasebno: Sterilni štapići od vate (*nemojte koristiti štapiće od poliestera*); inkubator (35 – 37 °C) bez CO₂ (vlažnost 40 – 60%), standardi McFarland br. 4 i br. 5, **BBL Crystal** Panel Viewer (uređaj za pregledavanje ploča **BBL Crystal**), **BBL Crystal** ID System Electronic Codebook (elektronska knjiga kodova sustava **BBL Crystal** ID) ili **BBL Crystal** ANR Manual Codebook (knjiga kodova za ručnu upotrebu **BBL Crystal** ANR) i **BBL** DMACA Indole Reagent Droppers (kapaljke s reagensom indolom **BBL** DMACA), pločica s neselektivnom kulturom i reagens katalaze.

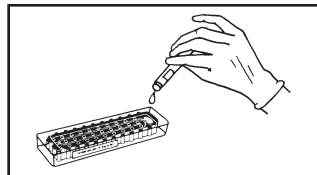
Potrebna je i odgovarajuća oprema i laboratorijski pribor za pripremu, čuvanje i rukovanje kliničkim uzorcima.

Postupak ispitivanja: Za sustav **BBL Crystal** ANR ID potrebno je bojenje po Gramu, kao i rezultati ispitivanja s katalazom i indolom. Prije postavljanja ploče treba napraviti ispitivanja katalaze i indola. Napravite ispitivanja s indolom prema uputama u pakiranju. Za ispitivanje katalaze preporučuje se 15,0%-tna otopina hidrogen peroksida s dodatkom 1,0%-tnog Tween 80.^{9,24}

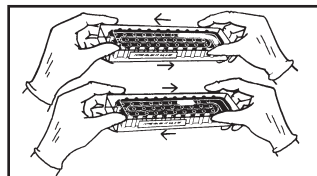
- Izvadite poklopce iz vrećice. Bacite desikant. Kada se poklopci izvade iz vrećice, treba ih upotrijebiti unutar 1 h. Nemojte koristiti ploču ako u vrećici nema desikanta.
- Uzmite jednu epruvetu s inokulacijskom tekućinom i stavite naljepnicu s brojem uzorka pacijenta. Koristeći aseptičnu tehniku s vrhom sterilnog štapića s vatom (*nemojte koristiti štapić od poliestera*) ili s drvenim štapićem ili plastičnom mikrobiološkom ušicom za jednokratnu upotrebu uzmite kolonije iste morfologije iz jedne od preporučenih podloga (pogledajte poglavlje „Prikupljanje i obrada uzoraka“).
- Kolonije otopite u epruveti s inokulacijskom tekućinom **BBL Crystal** ANR, GP, RGP, N/H ID.
- Ponovno začepite epruvetu i promiješajte vorteks mikserom 10 – 15 s. Zamućenost treba biti ekvivalentna standardu McFarland br. 4 (ne smije se prijeći standard McFarland br. 5). Ako koncentracija otopine inokuluma prelazi preporučeni standard McFarland, preporučujemo nešto od sljedećeg:
 - S epruvetom svježe inokulacijske tekućine pripremite novi inokulum ekvivalentan standardu McFarland br. 4.



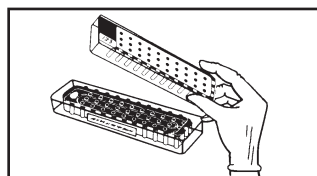
- b. Ako nisu dostupne dodatne kolonije za pripremu novog inokuluma, pomoću aseptičnih tehnika, razrijedite inokulum dodavanjem minimalno potrebnog volumena (ne više od 1,0 mL) sterilne 0,85%-tne fiziološke otopine kako biste smanjili zamućenost i došli do standarda McFarland br. 4. Sterilnom pipetom izvadite višak dodan u epruvetu tako da konačni volumen inokuluma bude približno jednak početnom volumenu u epruveti ($2,3 \pm 0,15$ mL). Ako ne prilagodite volumen doći će do razlijevanja inokuluma na crnom dijelu baze i ploča će na taj način postati neupotrebljiva.
5. Uzmite bazu i napišite broj pacijentovog uzorka na bočnu stjenku.
6. Ulijte svu inokulacijsku tekućinu u ciljno područje na bazi.



7. Držite bazu objema rukama i lagano kotrljajte inokulum preko perforacija dok se ne napune sva udubljenja. *Vratite* višak tekućine u ciljno područje i stavite bazu na postolje. Zbog visoke koncentracije stanica na pločama **BBL Crystal** ANR ID, inokulum treba polagano rasporediti po perforacijama kako bi ispunio sva udubljenja. Prije nego što poravnate poklopac, provjerite ima li između udubljenja viška tekućine.

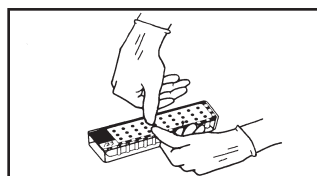


8. Poravnajte poklopac tako da dio s naljepnicom bude iznad ciljnog područja baze.

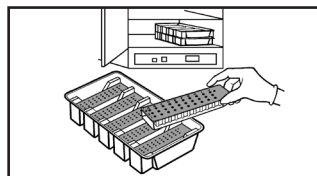


9. Gurajte prema dolje dok ne osjetite blagi otpor. Palčevima na rubu ploče okrenutim prema sredini ploče istovremeno gurajte prema dolje sve dok poklopac ne bude čvrsto zatvoren (trebaju se čuti dva „klika“).

Čistoća pločice: Sterilnom ušicom uzmite malu kap inokuluma iz epruvete prije ili poslije inokulacije baze i inokulirajte kosi agar ili pločicu (bilo koju neselektivnu podlogu) kako biste provjerili čistoću. Bacite epruvetu s inokulumom i čep u spremnik za opasan biološki otpad. Inkubirajte kosi agar ili pločicu 24 – 48 h na temperaturi od 35 – 37 °C u anaerobnim uvjetima. Kosi agar ili pločica za provjeru čistoće mogu se, po potrebi, koristiti i za dodatna ispitivanja ili serologiju.

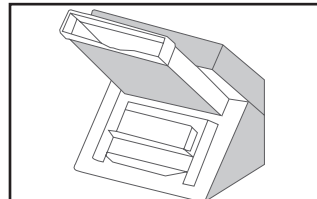


Inkubacija: Stavite inokulirane ploče u inkubacijske ladice. U jednu ladicu (5 redova po 2 ploče) može stati deset ploča. Sve ploče treba inkubirati okrenute **prema dolje** (veći prozorčić okrenuti prema gore; naljepnica prema dolje) u inkubatoru bez CO₂ sa stupnjem **vlažnosti** od 40 – 60%. Tijekom inkubacije ladice ne smiju biti postavljene jedna na drugu niti ih smije biti više od dvije. Vrijeme inkubacije ploča je **4 h** na temperaturi od 35 – 37 °C. **NAPOMENA:** Ne preporučuje se otvaranje vrata inkubatora tijekom inkubacije (najviše 3 puta).



Očitavanje: Nakon preporučenog razdoblja inkubacije, izvadite ploče iz inkubatora. Sve ploče treba očitavati okrenute **prema dolje** (veći prozorčić okrenuti prema gore; naljepnica prema dolje) pomoću uređaja za pregledavanje ploča **BBL Crystal**. Pogledajte tablicu s reakcijama boja i/ili Tablicu 3 za objašnjenje reakcija. Reakcije zabilježite u blok za bilješke **BBL Crystal** ANR.

- a. Prvo očitajte stupce G do J, pomoću uobičajene (bijele) svjetlosti.
- b. Očitajte stupce od A do F (fluorescentni supstrati) pomoću UV svjetlosti u uređaju za pregledavanje ploča. Udubljenje s fluorescentnim supstratom smatra se pozitivnim *samo ako* je primijećen intenzitet fluorescencije u udubljenju *veći* od udubljenja za negativnu kontrolu (A4).



Izračunavanje broja profila BBL Crystal: Svakom pozitivnom rezultatu ispitivanja osim 4A koji se koristi kao fluorescentna negativna kontrola pridružuje se vrijednost 4, 2 ili 1 ovisno o redu u kojem se ispitivanje nalazi. Vrijednost 0 (nula) daje se bilo kojem negativnom rezultatu. Brojevi (vrijednosti) iz svake pozitivne reakcije u svakom stupcu zatim se zbrajaju. Nastaje deseteroznamenasti broj; to je broj profila.

Primjer:	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) = negativna kontrola fluorescencije

Odaberite odgovarajuću bazu podataka BBL Crystal Anaerobe iz ponuđenog izbornika. Vrsta primarne pločice korištena za pripremu inokuluma odredit će odgovarajuću bazu podataka. Za upotrebu s podlogama s krvnim agarom Brucella ili Columbia u izborniku odaberite bazu podataka za drugi krvni agar.

Dobiveni broj profila i rezultate ispitivanja izvan mreže (bojenje po Gramu, katalaza i indol) treba unijeti u računalo na kojem je instalirana elektronska knjiga kodova sustava **BBL Crystal ID** kako bi se dobila tražena identifikacija. Dostupna je i knjiga kodova za ručnu upotrebu. Ako nemate dostupno računalo, kontaktirajte lokalnog predstavnika tvrtke BD za pomoć pri identifikaciji.

Korisnička kontrola kvalitete: Ispitivanje kontrole kvalitete preporučuje se za svaku seriju ploča, prema sljedećim uputama –

1. Inokulirajte ploču koja sadrži *Bacteroides fragilis* ATCC 25285 prema preporučenom postupku (pogledajte „Postupak ispitivanja“).
2. Prije inkubacije ploču ostavite na sobnoj temperaturi 1 min (ne više od 2 min).
3. Očitajte reakcije pomoću uređaja za pregledavanje ploča te ih zabilježite u tablicu s reakcijama boja.
4. Ako je jedno od udubljenja, osim 1F, pozitivno po tablici s reakcijama boja (nakon 1 – 2 min), **NE KORISTITE PLOČE** iz te serije. Za pomoć kontaktirajte lokalnog predstavnika tvrtke BD. (NAPOMENA: Udubljenje 1F [eskozil] mora biti pozitivno nakon rehidracije.)
5. Ako su sva udubljenja negativna, inkubirajte ploču 4 h na temperaturi od 35 – 37 °C.
6. Očitajte ploču uređajem za pregledavanje ploča i tablicom s reakcijama boja; a reakcije zabilježite u blok za bilješke.
7. Usporedite zabilježene reakcije s onima koje su navedene u tablici 4. Ako se rezultati ne slažu, provjerite čistoću soja bakterija na kojem je napravljena kontrola kvalitete prije nego što kontaktirate lokalnog predstavnika tvrtke BD.
8. Ne preporučuje se otvaranje vrata inkubatora tijekom inkubacije (najviše 3 puta).

Očekivani rezultati ispitivanja za dodatne sojeve bakterija za kontrolu kvalitete također su navedeni u tablici 5.

OGRANIČENJA POSTUPKA

Sustav **BBL Crystal ANR ID** napravljen je za vrste koje su na raspolaganju. Vrste koje nisu navedene u tablici 1 ne smiju se upotrebljavati u ovom sustavu.

Sve baze podataka sustava **BBL Crystal Anaerobe ID** razvijene su s podlogama **BBL**. Reaktivnost nekih supstrata u sustavima za brzu identifikaciju može ovisiti o izvornoj podlozi koja se koristi u pripremi inokuluma. Preporučujemo upotrebu sljedećih podloga **BBL** za korištenje sa sustavom **BBL Crystal ANR ID**: CDC Anaerobe Blood Agar, Schaedler Agar with Vitamin K₁ and 5% Sheep Blood, Columbia Agar with 5% Sheep Blood i Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K₁ (pogledajte „Dostupnost“).

Sustavi za identifikaciju **BBL Crystal** koriste modificirano mikrookruženje. Iz tog razloga očekivane vrijednosti za pojedina ispitivanja mogu biti različite od informacija do kojih se prethodno došlo sa standardnim reakcijama ispitivanja. Preciznost sustava **BBL Crystal ANR ID** temelji se na statističkoj upotrebi posebno napravljenih ispitivanja i na ekskluzivnoj bazi podataka.

Premda Sustav **BBL Crystal ANR ID** pomaže u mikrobnj diferencijaciji, potrebno je znati da može doći do manjih varijacija u sojevima unutar vrsta. Upotrebu ploča i interpretaciju rezultata mora vršiti iskusen mikrobiolog. Konačna identifikacija izolata u obzir treba uzeti izvor uzorka, aerotoleranciju, staničnu morfologiju, karakteristike kolonije na raznim podlogama, kao i metaboličke krajnje proizvode kao što je utvrđeno kromatografijom plin-tekućina, ako je to opravdano.

Tablica 4

Tablica za kontrolu kvalitete sustava BBL Crystal ANR ID*

Smještaj na ploči	Supstrat	Kod	<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285
4A	Negativna kontrola fluorescencije	FCT	—
2A	L-arginin-AMC	FAR	V
1A	L-histidin-AMC	FHI	—
4B	4MU-α-D-manozid	FAM	V ¹
2B	L-serin-AMC	FSE	—
1B	L-izoleucin-AMC	FIS	—
4C	4MU-β-D-manozid	FBM	+
2C	Glicin-AMC	FGL	—
1C	L-alanin-AMC	FAL	V
4D	4MU-N-acetil-β-D-galaktozaminid	FGA	+
2D	L-piroglutaminska kiselina-AMC	FPY	V ^{1,11}
1D	L-lizin-AMC	FLY	V
4E	L-metionin-AMC	FME	V
2E	4MU-β-D-celobiopiranozid	FCE	+
1E	4MU-β-D-ksilozid	FXV	V ¹
4F	L-fenilalanin-AMC	FPH	V
2F	L-leucin-AMC	FLE	+
1F	Eskozil	FSC	— ^{3,4,10}
4G	Disaharid	DIS	+
2G	Furanoza	FUR	+
1G	Piranoza	PYO	+ ¹
4H	p-n-p-α-D-galaktozid	AGA	+
2H	p-n-p-β-D-galaktozid	NPG	+
1H	p-n-p-fosfat	PHO	+
4I	p-n-p-α-D-glukozid	AGL	+
2I	p-n-p-N-acetil-glukozaminid	NAG	+
1I	L-prolin-p-nitroanilid	PRO	—
4J	p-n-p-α-L-fukozid	AFU	+
2J	p-n-p-β-D-glukozid	BGL	+
1J	L-alanil-L-alanin-p-nitroanilid	ALA	+

1 = Negativan na **BBL** Schaedler6 = Promjenjiv na **BBL** Brucella2 = Pozitivan na **BBL** Schaedler7 = Negativan na **BBL** Columbia3 = Promjenjiv na **BBL** Schaedler8 = Pozitivan na **BBL** Columbia4 = Negativan na **BBL** Brucella9 = Promjenjiv na **BBL** Columbia5 = Pozitivan na **BBL** Brucella

Tablica 5

Dodatni sojevi za kontrolu kvalitete za sustav BBL Crystal ANR ID

Smještaj na ploči	Supstrat	Kod	<i>Bacteriodes distasonis</i> ATCC 8503	<i>Peptostreptococcus asaccharolyticus</i> ATCC 29743	<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 314	<i>Fusobacterium varium</i> ATCC 27725
4A	Negativna kontrola fluorescencije	FCT	—	—	—	—
2A	L-arginin-AMC	FAR	+	+	+	— ^{4,10}
1A	L-histidin-AMC	FHI	V	+	+ ³	—
4B	4MU-α-D-manozid	FAM	+	—	—	—
2B	L-serin-AMC	FSE	—	—	+ ³	—
1B	L-izoleucin-AMC	FIS	— ⁴	—	+	—
4C	4MU-β-D-manozid	FBM	+ ¹⁰	—	—	—
2C	Glicin-AMC	FGL	V ^{1,12}	V ¹	V ²	—
1C	L-alanin-AMC	FAL	+	V ¹	+	—
4D	4MU-N-acetil-β-D-galaktozaminid	FGA	+	—	—	—
2D	L-piroglutaminska kiselina-AMC	FPY	V ^{1,12}	—	V ^{11,24}	+
1D	L-lizin-AMC	FLY	V ^{2,12,15}	+	+	—
4E	L-metionin-AMC	FME	+	+ ^{4,10}	+	V
2E	4MU-β-D-celobiopiranozid	FCE	V ¹²	—	+	—
1E	4MU-β-D-ksilozid	FXV	+ ¹⁰	—	—	—
4F	L-fenilalanin-AMC	FPH	V ¹²	V	+	—
2F	L-leucin-AMC	FLE	+	+ ¹⁰	+	V
1F	Eskozil	FSC	V	V ^{2,15}	+ ^{3,4,10}	V ¹⁵
4G	Disaharid	DIS	+	—	+ ^{3,10,24}	—
2G	Furanoza	FUR	+	—	+	V
1G	Piranoza	PYO	+	—	+ ¹⁰	+
4H	p-n-p-α-D-galaktozid	AGA	+	—	+ ^{3,4,10}	—
2H	p-n-p-β-D-galaktozid	NPG	+	—	+ ^{3,4,10}	—
1H	p-n-p-fosfat	PHO	+	—	—	—
4I	p-n-p-α-D-glukozid	AGL	+	—	V ¹	—
2I	p-n-p-N-acetil-glukozaminid	NAG	+	—	V ^{12,15}	—
1I	L-prolin-p-nitroanilid	PRO	—	—	V	—
4J	p-n-p-α-L-fukozid	AFU	—	—	—	—
2J	p-n-p-β-D-glukozid	BGL	+	—	+	—
1J	L-alanil-L-alanin-p-nitroanilid	ALA	+	—	V	—

*Prikazani rezultati očekuju se kada se koristi agar **BBL** CDC Anaerobe Agar with 5% sheep blood.

Za pripremu otopine inokuluma treba koristiti samo štapiće s vrhom od vate ili štapiće s drvenim aplikatorom ili jednokratne plastične ušice jer neki štapići od poliestera mogu uzrokovati viskozitet inokulacijske tekućine. Uslijed tog može biti premalo inokulacijske tekućine da se napune udubljenja. Kada se poklopci jednom izvade iz zapečaćenih vrećica mora ih se upotrijebiti unutar 1 h kako bi imali odgovarajuće radne značajke. Plastični pokrov treba ostati na poklopcu do upotrebe.

Inkubator u kojeg se stavljaju ploče mora sadržavati vlagu kako bi se spriječilo isparavanje inokulacijske tekućine iz udubljenja tijekom inkubacije. Preporučeni stupanj vlažnosti je 40 – 60%.

Ploče nakon inokulacije treba inkubirati okrenute **prema dolje** (veći prozorčić okrenuti prema gore; naljepnica prema dolje) kako bi se maksimalno iskoristila učinkovitost supstrata.

Koristite izolate iz **neselektivnih** pločica krvnog agara kao što su **BBL CDC Anaerobe**, **Brucella**, **Columbia** i **Schaedler** (pogledajte „Dostupnost“).

Ako se ispitnim profilom **BBL Crystal** dobije rezultat „Bez identifikacije” i potvrđena je čistoća kulture, vjerojatno je da (i) ispitni izolat stvara **atipične reakcije BBL Crystal** (što također može biti posljedica proceduralnih pogrešaka), (ii) ispitne vrste nisu dio očekivanih vrsta ili (iii) sustav ne može identificirati ispitni izolat s potrebnom razinom pouzdanosti. Preporučuju se konvencionalne metode ispitivanja ako je isključena mogućnost korisničke pogreške.

RADNA SVOJSTVA

Reproduktivnost: U vanjskoj studiji u koju su bila uključena četiri klinička laboratorija (ukupno pet evaluacija), višestrukim ispitivanjem proučavana je reproduktivnost (29) reakcija supstrata **BBL Crystal ANR ID**. Reprodutivnost pojedinačnih reakcija supstrata kretala se od 96,2% – 100%. Utvrđeno je da je ukupna reprodutivnost ploče **BBL Crystal ANR** 99,1%.²⁵

Preciznost identifikacije: Funkcionalnost sustava **BBL Crystal ANR ID** uspoređena je s trenutno dostupnim komercijalnim sustavom, kao i sa standardnim referentnim metodama identifikacije koje se temelje na preporukama laboratorija VA Wadsworth, upotrebom **kliničkih izolata i koncentriranih kultura**. Provedeno je ukupno pet studija u četiri nezavisna laboratorija. Za utvrđivanje radnih svojstava korišteni su svježi ustaljeni izolati koji dolaze u klinički laboratorij, kao i prethodno identificirani izolati izabrani na mjestima kliničkih ispitivanja.

Od ukupno 633 izolata koji su ispitani u pet studija, 588 (93%) ispravno je identificirano (uključujući izolate za koje je potrebno zamjensko ispitivanje) pomoću sustava za identifikaciju **BBL Crystal ANR**. Ukupno 36 (6%) izolata netočno je identificirano, a za 9 (1%) izolata dobivena je poruka „Bez identifikacije”.²⁵

DOSTUPNOST

Kat. br.	Opis	Kat. br.	Opis
245010	BBL Crystal Anaerobe ID Kit, svaki sadrži 20 komada: BBL Crystal Anaerobe ID Panel Lids, BBL Crystal Bases i BBL Crystal Anaerobe ID Inoculum Fluid.	221734	BBL CDC Anaerobe Blood Agar with 5% Sheep Blood, sadrži 100 pločica.
245038	BBL Crystal ANR, GP, RGP, N/H ID Inoculum Fluid, sadrži 10 komada.	221539	BBL Schaedler Agar with Vitamin K ₁ and 5% Sheep Blood, pakiranje od 20 komada.
245031	BBL Crystal Panel Viewer, domaći model, 110 V, 60 Hz.	221540	BBL Schaedler Agar with Vitamin K ₁ and 5% Sheep Blood, sadrži 100 komada.
245032	BBL Crystal Panel Viewer, europski model, 220 V, 50 Hz.	221165	BBL Columbia Agar with 5% Sheep Blood, pakiranje od 20 komada.
245033	BBL Crystal Panel Viewer, japanski model, 100 V, 50/60 Hz.	221263	BBL Columbia Agar with 5% Sheep Blood, sadrži 100 komada.
245034	BBL Crystal Panel Viewer Longwave UV Tube.	297848	BBL Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K ₁ , pakiranje od 20 komada.
245036	BBL Crystal Panel Viewer White Light Tube.	297716	BBL Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K ₁ , sadrži 100 komada.
245011	BBL Crystal Identification Systems Anaerobe Manual Codebook.	261187	BBL DMACA Indole Reagent Droppers, sadrži 50 komada.
221733	BBL CDC Anaerobe Blood Agar with 5% Sheep Blood, pakiranje od 20 pločica.	212539	BBL Gram Stain Kit, pakiranje 4 bočice x 250 mL.

REFERENCE

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 β -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.

Tehnički servis i podrška na BD Diagnostics: kontaktiraj lokalnog predstavnika 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 mjeseca)
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 каталору / 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 / Volitatus 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 Evropském společenství / 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-kode (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 upute za upotrebu / Olvassa el a használati utasítást / Consultare le istruzioni per l'uso / Пайдалану нұсқаулығымен танысып алыңыз / Skatykite 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 за 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