

Návod na použitie

Účel určenia:

Kombinácia dvoch selektívno-diferenciálnych kultivačných médií určených na izoláciu a kultiváciu enterobaktérií z klinických a iných vzoriek, a zároveň umožňujúcich aj priamu diferenciáciu niektorých bakteriálnych druhov čeľade *Enterobacteriaceae*.

DCL agar/ MacConkey agar (biplate) je kvalitatívna in vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka, určená na pomoc pri diagnostike infekčných ochorení. Len na profesionálne použitie.

Alternatívny názov:

DC / MacConkey agar (biplate)

Skupina:

Médium kultivačné tuhé – selektívne a diferenciálne

Princíp:

DCL agar obsahuje deoxycholát a citrát sodný v takej koncentrácii, že dochádza k inhibícii rastu gram-pozitívnych kokov a väčšiny kmeňov koliformných baktérií (*Enterobacter*, *Citrobacter*, príp. iné). Umožňuje rast *Salmonella*, mierne inhibované sú niektoré druhy *Shigella* (*S. shigae*). Médium umožňuje diferenciáciu na základe štiepenia laktózy. Degradácia laktózy spôsobuje okyslenie média v okolí príslušných kolónií, pH indikátor (neutrálna červen) zmení farbu média na červenú. Tieto kolónie sú taktiež často obklopené zakalenou zónou vyžrážanej deoxycholovej kyseliny (k vyžrážaniu dochádza vplyvom zníženia pH). Laktózu neštiepiace mikroorganizmy rastú ako bezfarebné kolónie. Diferenciácia mikroorganizmov na základe schopnosti redukovať thiosíran a tvoriť sulfán je indikovaná tvorbou čierneho sulfidu železa.

MacConkey agar (MC) e stredne selektívne a diferenciačné médium používané hlavne na detekciu a izoláciu gram-negatívnych baktérií z klinických vzoriek, potravín, vody, farmaceutických alebo priemyselných zdrojov.

Zdrojom dusíka a ďalších živín sú peptóny. Na indikáciu zmeny pH v médiu sa pridáva neutrálna červen. Kryštálová vlna a žlčové soli zabezpečia inhibíciu rastu gram-pozitívnych baktérií. Gram-negatívne baktérie zvyčajne na médiu rastú dobre a sú diferencované na základe ich schopnosti fermentovať laktózu. Laktózu fermentujúce kmene rastú ako červené alebo ružové kmene a môžu byť obklopené zónou precipitátu žlčových solí. Červená farba vzniká tvorbou kyselín pri štiepení laktózy, absorpcii neutrálnej červene a následnou farebnou zmenou pri poklese pH (pod 6.8). Kolónie kmeňov skupiny *Escherichia/Citrobacter* bývajú skôr suchšie, ploché s dvorcem precipitátu okolo. Kolónie príslušníkov skupiny *Klebsiella/Enterobacter* bývajú väčšinou vyklenuté, mukózne, v centre skôr krémové ako ružové. Laktózu nefermentujúce kmene ako *Shigella* a *Salmonella* sú bezfarebné, priehľadné a typicky nemenia vzhľad média.

Očakávané výsledky:

DCL agar :

Shigella sp.: bezfarebné kolónie

Salmonella sp.: priehľadné kolónie, s čiernym stredom po 24/48 hod.

Proteus sp.: matné kolónie, so šedým stredom

Escherichia coli: rast čiastočne potlačený, vitálnejšie kmene majú ružové až červené kolónie s precipitátom

Enterobacter sp., *Klebsiella* sp.: rast čiastočne potlačený, ružové až červené kolónie gram-pozitívne koky (enterokoky): čiastočný rast až inhibícia

MacConkey agar :

Escherichia coli: ružové až červené kolónie s precipitátom

Enterobacteriaceae, *Klebsiella* sp.: mukoidné ružové kolónie

Shigella sp., *Salmonella* sp.: bezfarebné, resp. naružovelé kolónie

Pseudomonas sp.: nepravidelné bezfarebné, resp. naružovelé kolónie gram-pozitívne baktérie: rast veľmi slabý až inhibovaný

Zloženie (v gramoch na liter médiá):

MacConkey agar:

Bakteriologický peptón	20
Žlčové soli	1,5

Kat.číslo:
MKM 01072

DCL agar/ MacConkey agar (biplate)

In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka
Len na profesionálne použitie



Chlorid sodný	5
Laktóza	10
Neutrálna červeň	0,05
Kryštálová violet	0,001
Agar	15

DCL agar:

Mäsový peptón	5
Mäsový extrakt	5
Citrát sodný	8,5
Thiosíran sodný	5,4
Citrát železitý	1
Deoxycholát sodný	5
Laktóza	10
Neutrálna červeň	0,02
Agar	12

pH: 7,2 ±0,2 (MacConkey agar)
7,3 ±0,2 (DCL agar)

Farba: Ružová (MacConkey agar)
Ružová (DCL agar)

Poskytovaný materiál: DCL agar/ MacConkey agar (biplate) – ready-to-use-medium, vyhotovenie a počet kusov v závislosti od katalógového čísla (Pozrite Dostupné vyhotovenia).

Požadovaný, ale neposkytovaný materiál: Sterilné kľučky, sterilné tampóny, podľa potreby pomocné kultivačné média a činidlá na identifikáciu kolónií, inkubátor.

Typy vzoriek: Klinické vzorky: vzorky so zmiešanou flórou ako je moč, stolica, rektálne výtery.

Vzorky odoberať ešte pred antimikrobiálnou liečbou. Pri odbere, transporte a skladovaní klinických vzoriek dodržujte správne laboratórne postupy.

Neklinické vzorky: potraviny, nesterilné farmaceutické produkty, kozmetika.

Pracovný postup: Vzorky naočkovať čo najskôr po prijatí vzorky do laboratória. Pred očkovaním nechať platne vytemperovať na izbovú teplotu a vysušiť povrch média.

Klinický materiál/ vzorku asepticky naniesť paralelne na povrch oboch kultivačných médií (oterom výterového tampónu alebo sterilnou kľučkou) a následne rozočkovať na celú plochu misky pre účely izolácie čistých kultúr zo vzoriek so zmiešanou flórou. Inkubovať za podmienok vid'. Podmienky kultivácie.

Na určenie izolovaných kolónií je nutné použiť ďalšie identifikačné metódy.

Za výber vhodného inkubačného času, teploty a atmosféry v závislosti od spracovanej vzorky, od požiadaviek organizmov, ktoré majú byť izolované, a od lokálnych platných predpisov je zodpovedný používateľ.

Podmienky kultivácie: Za podmienok kultivácie: 18 až 24/ 48 hodín pri 35±2°C, aeróbne

Kontrola kvality:

Mikroorganizmus	DCL agar/ MacConkey agar		
	Rast	H ₂ S	Vzhľad kolónií
<i>Salmonella enteritidis</i> CCM 4420	+/+	+/+	priehľadné s čiernym stredom/ bezfarebné

Kat.číslo:
MKM 01072

DCL agar/ MacConkey agar (biplate)

In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka
Len na profesionálne použitie



<i>Salmonella typhimurium</i> CCM 7205	+/+	+/+	priehľadné s čiernym stredom/ bezfarebné
<i>Shigella sonnei</i> CCM 1373	+/+	-/-	bezfarebné/ bezfarebné
<i>Proteus mirabilis</i> CCM 1944	+/+	+/-	matné so šedým stredom/ bezfarebné
<i>Escherichia coli</i> CCM 3954	±/+	-/-	ružové/ ružové s precipitátom
<i>Klebsiella oxytoca</i> CCM 1900	+/+	-/-	ružové/ ružové
<i>Enterobacter cloacae</i> CCM 1903	±/+	-/-	ružové/ ružové
<i>Staphylococcus aureus</i> CCM 3953	-/-	-	inhibícia/ Inhibícia

Mikrobiologický stav:

Kultivačné médiá spoločnosti Mkb Test a.s. sú naplnené asepticky (najprv prebehne sterilizácia a až následné plnenie do obalov). Pri médiách pripravených týmto spôsobom povoľuje norma STN EN 12322, a následne podľa nej vypracovaný interný štandardný pracovný postup č.4 na hodnotenie sterility, rozsah kontaminácie $\leq 5\%$.

Dodatočná kontrola kvality používateľom:

Všetky vyrobené šarže produktu DCL agar/ MacConkey agar (biplate) sú uvoľnené do predaja až po vykonaní kontroly kvality v akreditovanom laboratóriu, kde je overená zhoda so špecifikáciami (viď Charakteristika výkonu) a následne je vystavený certifikát kvality – Protokol o skúškach živných pôd.

Je však zodpovednosťou koncového používateľa vykonať test kontroly kvality v súlade s platnými predpismi, v súlade s akreditačnými požiadavkami a skúsenosťami laboratória. Odporúčané kmene sú uvedené v časti Kontrola kvality.

Charakteristika výkonu:

Pred uvoľnením do predaja sú hotové kultivačné médiá a súčasne i dehydrovaný základ testované na produktivitu a selektivitu, a to porovnaním výsledkov s predtým schválenou referenčnou šaržou.

DCL

Produktivita (Pr) je testovaná referenčnými kmeňmi cieľových mikroorganizmov - *Salmonella enteritidis* CCM 4420, *Salmonella typhimurium* CCM 7205, *Shigella sonnei* CCM 1373, *Proteus mirabilis* CCM 1944 a *Klebsiella oxytoca* CCM 1900, s použitím inokula ≤ 100 KTJ.

Selektivita je testovaná referenčnými kmeňmi necieľových mikroorganizmov - *Staphylococcus aureus* CCM 3953, *Escherichia coli* CCM 3954 a *Enterobacter cloacae* CCM 1903, s použitím inokula 10^8 KTJ.

MacConkey agar

Produktivita (Pr) je testovaná referenčnými kmeňmi cieľových mikroorganizmov - *Escherichia coli* CCM 3954, *Salmonella enteritidis* CCM 4420, *Enterobacter cloacae* CCM 1903, *Shigella sonnei* CCM 1373 a *Proteus mirabilis* CCM 1944, s použitím inokula ≤ 100 KTJ.

Selektivita je testovaná referenčnými kmeňmi necieľových mikroorganizmov - *Staphylococcus aureus* CCM 3953 a *Candida albicans* CCM 8186, s použitím inokula 10^8 KTJ.

Ak má kultivačné médium Pr $\geq 0,7$ (pomer počtu kolónií na testovanom médiu a médiu referenčnom) u cieľových mikroorganizmov, morfológiu a farbu kolónií typickú pre dané médium a potvrdená je inhibícia u necieľových mikroorganizmov po kultivácii pri 35 ± 2 °C počas 24 až 48 hodín v aeróbnej atmosfére, výsledky sa považujú za prijateľné a v súlade so špecifikáciami. Produkt spĺňa deklarovaný výkon.

Obmedzenia testu:

DCL agar:

Niektoré druhy *Shigella* (*S. shigae*) môžu byť mierne inhibované.

Použitie jediného druhu média nezaručuje záchyt všetkých patogénov obsiahnutých vo vzorke. Preto je nutné na izoláciu použiť aj ďalšie médiá na izoláciu *Salmonella* a/alebo *Shigella* s nižšou selektivitou, ako napr. MacConkeyho agar alebo s vyššou selektivitou, ako je napr. SS agar.

Na médiu môžu rásť iné ako črevné organizmy nefermentujúce laktózu, ako sú *Pseudomonas* a *Aeromonas*.

Povrchové kolónie baktérií nefermentujúcich laktózu často absorbujú trochu farby z média a organizmy môžu byť zamenené za koliformné baktérie.

Niektoré kmene *Proteus spp.* nemusia byť úplne inhibované a kolónie môžu pripomínať salmonelu.

MacConkey agar:

Predĺžená inkubácia môže viesť ku skresleniu výsledkov, neinkubovať dlhšie ako 48 hodín.

Pri dlhšej inkubácii môžu niektoré kmene enterokokov vykazovať rast.

V dôsledku selektívnych vlastností tohto média niektoré kmene gram-negatívnych črevných baktérií nerastú alebo rastú zle. Naopak, niektoré gram-pozitívne organizmy nemusia byť inhibované alebo sú len čiastočne inhibované.

MacConkey agar nie je vhodný na detekciu a stanovenie počtu koliformných organizmov v potravinách. Za týmto účelom je vhodné použiť VČŽL agar.

Aj keď sú mikrobiálne kolónie na platniach odlišené na základe ich morfológických a chromatických charakteristík, odporúča sa na úplnú identifikáciu vykonať biochemické, imunologické, molekulárne testy alebo hmotnostnú spektrometriu izolátov z čistej kultúry.

Médium je určené na pomoc pri diagnostike infekčných ochorení, preto je nevyhnutné pri interpretácii výsledkov testu brať do úvahy klinickú anamnézu pacienta, pôvod vzorky, ako aj výsledky ďalších diagnostických testov.

Stabilita:

Kultivačné médium je pri dodržaní odporúčaných skladovacích podmienok stabilné 2 mesiace odo dňa výroby.

Médium sa môže očkovať až do dátumu expirácie a inkubovať po odporúčanú dobu inkubácie. Dátum expirácie je uvedený na výrobku, na štítku výrobku a vo výstupnom certifikáte výrobku.

Po otvorení originálneho obalu spotrebovať do 24 hod.

Skladovanie:

pri +2 až +8 °C, v tme, v originálnom balení.

Zabrániť prehriatiu alebo premrznutiu výrobku. Zmrazenie môže poškodiť gélovú konzistenciu tuhých médií a dlhodobejšie skladovanie pri vyššej ako odporúčanej teplote môže znegodnotiť zložky kultivačného média, čo ovplyvní výkon média.

Zabrániť extrémnym a/ alebo opakovaným výkyvom teploty, čo má za následok vznik prílišnej vlhkosti v Petriho miskách.

Zabezpečiť uloženie a skladovanie v smere šípky ↑ na vonkajšom obale, v opačnom prípade môže nastať znegodnotenie výrobku.

V prípade vystavenia kultivačných médií umelému osvetleniu, slnečnému žiareniu alebo UV žiareniu počas dlhšej doby, môže sa znížiť ich výkonnosť.

Likvidácia: Použité a nepoužité, či kontaminované produkty likvidovať ako NEBEZPEČNÝ odpad v zmysle platných legislatívnych predpisov a interných postupov.

Bezpečnostné upozornenia a varovania: DCL agar/ MacConkey agar (biplate) je in vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka určená na kvalitatívnu diagnostiku. Nie je automatizovaná a nie je určená na sprievodnú diagnostiku.

Len na profesionálne použitie, a to primerane vyškoleným a kvalifikovaným laboratórnym personálom, ktorý dodržiava schválené preventívne opatrenia pre biologické nebezpečenstvo a aseptické techniky práce.

Pri manipulácii so vzorkami a výrobkami postupovať asepticky, za použitia primeraných ochranných prostriedkov v súlade s určeným účelom použitia. Dodržiavať zásady bezpečnosti práce a hygieny.

Všetky vzorky a výrobky po inokulácii sú považované za potenciálne INFEKČNÉ.

Médium nie je klasifikované ako nebezpečné podľa nariadenia (ES) č.1272/2008.

Médium obsahuje suroviny živočíšneho pôvodu. Napriek ante a post mortem kontrole zvierat počas výrobného a distribučného cyklu surovín u výrobcu základu a aditív, nie je možné úplne zaručiť, že média neobsahujú žiadny prenosný patogén. Z tohto dôvodu je potrebné zaobchádzať s produktami ako s potenciálne infekčnými a manipulovať s nimi podľa štandardných opatrení (zamedziť požitiu, vdýchnutiu a kontaktu s pokožkou, očami a sliznicami . atď.).

Kultivačné média spoločnosti Mkb Test a.s. sa nepovažujú za sterilný produkt, ale za produkt s kontrolovanou biologickou kontamináciou v medziach určených normou STN EN 12322 a štandardným pracovným postupom (ŠPP) č.4.

IVD diagnostická zdravotnícka pomôcka **len na jedno použitie.**

Odčítanie výsledkov rastu na médiu môže byť sťažené pre ľudí, ktorí majú problémy s rozpoznávaním farieb.

Akákoľvek zmena alebo úprava odporúčaných podmienok kultivácie, pracovného postupu, typu vzoriek, počtu použití či počtu testov, ako udáva výrobca môže ovplyvniť výkon tejto in vitro diagnostickej zdravotníckej pomôcky.


Nepoužívať výrobky po uplynutí doby expirácie.

Nepoužívať výrobky, ktoré vykazujú známky mikrobiálnej kontaminácie, vysušenia, mechanického poškodenia (poškodený vrchný obal alebo ochranné fólie, prasknutie atď), zmeny farby, nadbytočnú vlhkosť alebo preukazujú iné nedostatky.

Informácie použité v tomto dokumente boli definované podľa našich najlepších vedomostí a schopností, a predstavujú návod na použitie produktu. Nami uvedené informácie nezbavujú koncového používateľa zodpovednosti za kontrolu vhodnosti produktu DCL agar/ MacConkey agar (biplate) na zamýšľaný účel. Vždy musia byť sledované a dodržiavané platné zákony, nariadenia a štandardné postupy pri manipulácii so vzorkami.



V prípade zistenia poškodenia, nehody s deklarovávaným výkonom a iných nedostatkov tejto in vitro diagnostickej pomôcky hlásiť okamžite po zistení výrobcovi na e-mailovú adresu obchod@mkbtest.sk. v prípade závažnej nehody spôsobenej pomôckou, hlásiť túto udalosť príslušným orgánom a výrobcovi na vyššie uvedenú adresu..

Dostupné vyhotovenia:

Kat.číslo: MKM 01072	DCL agar/ MacConkey agar (biplate) In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka Len na profesionálne použitie	
---------------------------------------	--	--

Kat. č.	Vyhotovenie	Doplňujúce označenie	Balenie
MKM 01072-009	Dvojsektorová Petriho miska, 10 ml DCL agar + 10 ml MacConkey agar	(biplate)	9 ks
MKM 01072-018	Dvojsektorová Petriho miska, 10 ml DCL agar + 10 ml MacConkey agar	(biplate)	18 ks
MKM 01072-108	Dvojsektorová Petriho miska, 10 ml DCL agar + 10 ml MacConkey agar	(biplate)	108 ks

Použité symboly na vonkajšom obale:

 Katalógové číslo	 Číslo šarže	 In vitro diagnostická pomôcka	 Výrobca	 Dátum trvanlivosti	 Európska zhoda	 Krehké, zaobchádzajte opatrne
 Teplotný limit	 Obsah postačuje na <n> testov	 Pozri Návod na použitie	 Len na jedno použitie	 Uchovávajte mimo slnečného svetla	 Jedinečný identifikátor pomôcky	 Týmto smerom nahor

Použitá literatúra:

1. Merck Millipore. LEIFSON agar – Merck Microbiology Manual 12th Edition.
2. BIO-RAD, D.C.L. – BIO-RAD Manual
3. Votava M. Kultivační půdy v lékařské mikrobiologii. 1. vydání; Hortus; 2000.
4. MacFaddin JF. Media for isolation -cultivation-identification-maintenance of Medical Bacteria. Baltimore:Williams &Wilkins;1985
5. <https://himedialabs.com/TD/M081A.pdf> [28.08.2021]
6. Hynes M.(1942) J.Path. Bact.54. 193-207.

Výrobca:

MkB Test a.s.
Rosina 169
013 22 Rosina
Slovenská republika
Tel: (+421) 41 500 3555
www.mkbtest.sk

Revízie:

Verzia	Revízia č.	Zmena	Dátum
2	1	Kontrola pred hlásením IVD ZP na ŠÚKL	30.07.2018
	2	Aktualizácia a doplnenie obsahu v súlade s IVDR 2017/746	28.08.2021
	3	Aktualizácia a doplnenie údajov v časti: Účel určenia, Charakteristika výkonu Bezpečnostné upozornenia a varovania	03.11.2021
	4	Odstránenie informácie o výrobcovi základu	23.02.2022