


Kat.číslo: MKM 03045 MKM 10221	CLED agar In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka Len na profesionálne použitie	
---	---	--

Návod na použitie

Účel určenia: Neselektívne kultivačné médium určené na izoláciu, diferenciaciu a predpokladanú identifikáciu patogénov močových ciest.

CLED agar je kvalitatívna in vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka, určená na pomoc pri diagnostike infekčných ochorení. Len na profesionálne použitie.

Skupina: Médium kultivačné tuhé – neselektívne a nediferenciálne

Princíp: Na CLED agare rastú všetky významné močové patogény v dobre diferencovaných kolóniách so zreteľnými diagnostickými znakmi. Taktiež umožňuje diferenciaciu baktérií fermentujúcich laktózu a baktérií, ktoré laktózu nefermentujú. Ide o médium chudobné na elektrolyt (médium Cystine-Lactose-Electrolyte-Deficient, CLED), ale obsahujúce cystín a laktózu, a je ideálne pre techniky máčaného náteru a všeobecne pre bakteriológiu močového traktu. Živné látky v CLED agare dodávajú želatínové a kazeínové peptóny a hovädzí výťažok. Laktóza je zdrojom energie pre organizmy schopné využiť ju pomocou fermentačných mechanizmov. Ako pH indikátor pre odlišenie baktérií fermentujúcich laktózu od nefermentujúcich je použitá bromthymolová modrá. Organizmy, ktoré fermentujú laktózu, znižujú pH a menia farbu média zo zelenej na žltú. Cystín umožňuje rast koliformných "trpasličích kolónií". Nedostatok elektrolytu minimalizuje plazivý rast druhu *Proteus*. Toto médium teda umožňuje v prípade, že sú na očkovanie použité kalibrované kľučky, kvantitatívne určenie patogénov z močového traktu vrátane baktérií *Proteus*.

Očakávané výsledky: *Escherichia coli*: žlté, nepriehľadné, u kmeňov oneskorene štiepiacich laktózu bývajú namodralé
 rod *Klebsiella*: mukózne žlté až belavo-modré kolónie
 rod *Proteus*: drobnejšie modré kolónie bez plazivého rastu
 rod *Salmonella*: ploché modré kolónie
Pseudomonas aeruginosa: nazelenalé, matné nepravidelné kolónie
Enterococcus faecalis: drobné žlté kolónie
Staphylococcus aureus: väčšie, tmavožlté, rovnomerne sfarbené
 koaguláza-negatívne stafylokoky: svetložlté až belavé, nepriehľadné, často so svetlejším okrajom
 difteroidy: drobučké, sivé
 lactobacily: podobné ako difteroidy, ale drsnejšie

Zloženie (v gramoch na liter média):

Pankreatický želatínový hydrolyzát	4
Enzymatický hydrolyzát kazeínu	4
Laktóza	10
L-cysteín	0,128
Bromthymolová modrá	0,02
Agar	15
Hovädzí extrakt	3


pH: 7,3 ±0,2

Farba: zelená

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

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

Typy vzoriek: CLED je určený výhradne na testovanie vzoriek moču. Viac informácií v časti Obmedzenia testu.

Kat.číslo: MKM 03045 MKM 10221	CLED agar In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka Len na profesionálne použitie	
---	---	--

Moč je potrebné očkovať na pôdu najviac 2 hodiny po odbere alebo ho treba ochladiť (najviac na 24 hodín), aby sa predišlo nadmernému nárastu infekčných látok alebo prímiesí pred naočkovaním na túto pôdu.

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

Pracovný postup č. 1
(Kultivačné médium v Petriho miske – kvalitatívny test):

Pred očkovaním nechať platne/ skúmavky vytemperovať na izbovú teplotu a vysušiť povrch média.

Testovaný materiál/ vzorku asepticky naniesť na povrch kultivačného média (otermom výterového tampónu alebo sterilnou kľučkou) a následne rozočkovať na celú plochu misky resp. skúmavky 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.

Pracovný postup č. 2
(Kultivačné médium v Petriho miske – stanovenie počtu mikroorganizmov):

Použitím kalibrovannej kľučky (0,01 alebo 0,001 ml) nabráť vzorku nezriedeného, dobre premiešaného moču. Zaistiť správne naplnenie kľučky vzorkou. Vzorku naniesť do stredu misky jedným pásikom a rozotrieť do strán. Misky inkubovať v okolitom vzduchu pri teplote $35 \pm 2^\circ\text{C}$ po dobu 24 až 48 hodín.

Po inkubácii vypočítať počet kolónií (CFU) na Petriho miske. Ak bola použitá kľučka s objemom 0,01 ml, každá výsledná kolónia predstavuje 100 CFU/ML; ak bola použitá kľučka s objemom 0,001 ml, každá kolónia zodpovedá 1000 CFU/ml moču.

Stredný prúd a katérový moč: Súčasné smernice naznačujú, že pri jedinom izoláte počet baktérií $\geq 10^5$ CFU/ml znamená infekciu, počet $<10^5$ CFU/ml naznačuje bakteriálnu urinálnu kontamináciu a ak je počet od 10^4 do 10^5 CFU/ml, musí byť znova izolát prehodnotený na základe klinických informácií.

Moč odobratý suprapubickou punkciou močového mechúra: Pretože močový mechúr je sterilný u neinfikovaných jedincov, akékoľvek zistené CFU indikuje infekciu.

Pracovný postup č.3
(Kultivačné médium vo fľaši):

Pevné kultivačné média dodávané vo fľaši rozohriať vo vodnom kúpeli (pri 100°C), a to 20 až 30 min, s pootvoreným uzáverom, ponorené až do výšky agaru. Odporúčame označiť si uzáver fľaše pred vložením do vodného kúpeľa. Médium následne ochladiť a rozplniť do požadovaných nosičov - Petriho misky, resp. skúmavky. Následne pokračovať spôsobom udaným v Pracovný postup č.1 alebo č.2.

Pre metódu zalatia vzorky nechať agar ochladiť na $45-50^\circ\text{C}$, zaliat vzorku vo vhodnom nosiči, opatrne premiešať a inkubovať za podmienok vid'. **PODMIENKY INKUBÁCIE.**

Médium sa nesmie rozohrievať opakovane.


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:

18 až 24 hodín pri $36\pm 1^\circ\text{C}$, aeróbne

Kontrola kvality:

Mikroorganizmus	Rast	Vzhľad kolónií
<i>Escherichia coli</i> CCM 3954	+	žlté kolónie
<i>Enterococcus faecalis</i> CCM 4224	+	drobné žlté kolónie

Kat.číslo: MKM 03045 MKM 10221	CLED agar In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka Len na profesionálne použitie	
---	---	--

<i>Proteus vulgaris</i> CCM 1956	+	modré kolónie, neplazí
<i>Staphylococcus aureus</i> CCM 3953	+	žlté kolónie

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 ≤ 5%.

Dodatočná kontrola kvality používateľom:

Všetky vyrobené šarže produktu CLED agar 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 pód.

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 špecifickosť, a to porovnaním výsledkov s predtým schválenou referenčnou šaržou.

Produktivita je testovaná referenčnými kmeňmi cieľových mikroorganizmov - *Escherichia coli* CCM 3954, *Enterococcus faecalis* CCM 4224, *Proteus vulgaris* CCM 1956 a *Staphylococcus aureus* CCM 3953, s použitím inokula ≤ 100 KTJ.

Ak má kultivačné médium produktivitu $Pr \geq 0,7$ (pomer počtu kolónií na testovanom médiu a médiu referenčnom) u cieľových mikroorganizmov, morfológiu a farbu kolónií typickú pre dané médium po aeróbnej kultivácii pri 35 až 37 °C počas 18 až 24 hodín, výsledky sa považujú za prijateľné a v súlade so špecifikáciami. Produkt spĺňa deklarovaný výkon.

Obmedzenia testu:

Streptokoky a ďalšie organizmy vyžadujúce k svojmu rastu krv alebo sérum nie je možné zachytiť dostatočne na tomto médiu, je nutná dlhšia inkubácia. Ak sa teda predpokladá prítomnosť takýchto organizmov, je nutné vzorky kultivovať taktiež na miskách MKM01011 Columbia krvný agar.

Urogenitálne patogény, napr. *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia*, *Ureaplasma* alebo iné náročné organizmy na tomto médiu nerastú.

Aj keď sú mikrobiálne kolónie na platniach odlišné na základe ich morfológických a chromatických charakteristík, hemolýzy, 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 3 až 5 mesiacov odo dňa výroby (v závislosti od vyhotovenia – Petriho misky – 5 mesiacov, fľaše – 3 mesiace).

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

Po otvorení originálneho obalu spotrebovať do 24 hod.

Kat.číslo: MKM 03045 MKM 10221	CLED agar In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka Len na profesionálne použitie	
---	---	--

Skladovanie:

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

Zabrániť prehriatiu alebo premrznutiu výrobku. Zmrazenie môže poškodiť gélovú konzistenciu tuhých médií a dlhodobjšie skladovanie pri vyššej ako odporúčanej teplote môže znížiť 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 znehodnotenie výrobku.

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

Likvidácia:

Použitá a nepoužitá, či kontaminované produkty likvidovať ako NEBEZPEČNÝ odpad v zmysle platných legislatívnych predpisov a interných postupov.

Bezpečnostné a varovania:
upozornenia

CLED agar 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 diagnostickéj 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.

Kat. číslo: MKM 03045 MKM 10221	CLED agar In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka Len na profesionálne použitie	
--	---	--

Informácie použité v tomto dokumente boli definované podľa našich najlepších vedomostí a schopností, a predstavujú návod na použitie produktu. Nami uvedené informácie nezabavujú koncového používateľa zodpovednosti za kontrolu vhodnosti produktu CLED agar 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 deklarováňým 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. č.	Vyhotovenie	Doplňujúce označenie	Balenie
MKM 03045-005	Petriho miska 90 mm, 18 ml (PM90)	-	5 ks
MKM 03045-010	Petriho miska 90 mm, 18 ml (PM90)	-	10 ks
MKM 03045-020	Petriho miska 90 mm, 18 ml (PM90)	-	20 ks
MKM 03045-120	Petriho miska 90 mm, 18 ml (PM90)	-	120 ks
MKM 10221-001	Fľaša, 500 ml	(500 ml)	

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. Votava M. Kultivační půdy v lékařské mikrobiologii. 1. vydání; Hortus; 2000.
2. <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=9179> [09.08.2021]
3. Difco™ & BBL™ Manual, Second Edition
4. Forbes, B.A., and P.A. Granato. Processing specimens for bacteria. 1995. In: Murray, P. R., 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.

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	23.07.2018
	2	Aktualizácia a doplnenie obsahu v súlade s IVDR 2017/746	09.08.2021
	3	Aktualizácia a doplnenie údajov v časti: Účel určenia, Charakteristika výkonu Bezpečnostné upozornenia a varovania	10.10.2021