

ÚČEL POUŽITÍ

Nefelometr **CrystalSpec** je přenosné zařízení napájené bateriemi, které je určeno k měření zakalení mikrobiálních suspenzí odpovídající hodnotám McFarlandovy normy v rozmezí 0,5 až 4,0. Přístroj lze použít při laboratorních postupech, které vyžadují úpravu hustoty inokula v tomto rozmezí.

SHRNUTÍ A VYSVĚTLENÍ

Vizuální porovnání suspenzí organismů s normami zakalení je považováno za přijatelný způsob odhadování hustoty organismů. Nejrozšířenější normou v této oblasti je McFarlandova norma.¹ McFarlandovu normu připravíte přidáním chloridu barnatého do zředěné kyseliny sírové. Hustotu výsledného precipitátu barytové běloby lze použít pro přibližný výpočet kolonií připravené suspenze; např. McFarlandova norma č. 1 je ekvivalentem přibližně 3×10^8 CFU/mL. Pro měření hustoty byly použity i jiné normy, včetně suspenzí s oxidem titaničitým² a suspenze s latexovými částicemi.³

Princip měření zakalení pomocí přístroje je založen na schopnosti částic rozptylovat v suspenzi světlo. Tomuto měření rozptýleného světla se říká nefelometrie.⁴ Abychom získali přesné hodnoty měření hustoty, musíme použít spolehlivou metodu.

ZÁSADY POSTUPU

Nefelometr **CrystalSpec** změří rozptýlené světlo dopadající pod úhlem 90°. Jedná se o přístroj v pevné fázi, který využívá světelnou diodu jako zdroj světla a fotodiodový detektor. Přístroj byl vyvinut za použití bakteriálních suspenzí ve známých koncentracích (CFU/mL). Výpočty kolonií byly upraveny podle jednotek McFarlandovy normy a přístroj **CrystalSpec** byl naprogramován tak, aby zobrazoval výsledky měření v jednotkách McFarlandovy normy. Kalibrační standardy, které jsou k přístroji přiloženy, byly vyvinuty za účelem ověření přesné kalibrace.

Před zahájením měření na nefelometru **CrystalSpec** proveďte podle těchto standardů kalibraci přístroje. Hodnotu mikrobiální suspenze odpovídající McFarlandově normě určíte tak, že zkumavku umístíte do komory pro odečet a zahájíte test stisknutím příslušného tlačítka. Výsledky testu se poté zobrazí na displeji LCD v jednotkách McFarlandovy normy.

TECHNICKÉ ÚDAJE:

Rozsah	0,5–4,0 podle McFarlandovy normy	Provozní podmínky přístroje	20 až 30 °C
Přesnost	$\pm 0,2$ jednotky McFarlandovy normy	Rozsah teploty pro skladování	
Možnost reprodukce	$\pm 0,1$ jednotky McFarlandovy normy	(přístroje a kalibrační zkumavky)	20 až 30 °C
Baterie	9 V alkalická	Velikost zkumavky se vzorkem	16–17 mm, skleněná
Životnost baterie	1 rok (přibližně)		zkumavka s plochým dnem

Bezpečnostní opatření: diagnostika *in vitro*.

Před použitím si přečtěte všechny pokyny a přesně je dodržujte.

POSTUP

Dodané materiály: nefelometr **CrystalSpec** včetně kalibračních standardů **CrystalSpec** Calibration Blank (**B**), **CrystalSpec** Calibration Standard (**S**), adaptér pro vzorky s malým objemem a 9V baterie.

Materiál, který není součástí dodávky: pomocná kultivační média a vybavení, které je zapotřebí pro přípravu bakteriální suspenze.

Pokyny:

VLOŽENÍ A VÝMĚNA BATERIE: Vyjměte nefelometr **CrystalSpec** a 9V baterii z balení. Obrat'te přístroj a sejměte kryt baterie. Vložte baterii a nasad'te kryt zpět.

Při výměně vybité baterie stiskněte po vyjmutí vybité baterie na 3 sekundy tlačítko kalibrace nebo tlačítko testu.

Po prvním vložení baterie se v průběhu interního vyhodnocování zobrazí v okně písmeno „T“. Písmeno „T“ se v okně zobrazí také po výměně vybité baterie za novou.

Dojde-li při vkládání nové baterie před zajištěním svorky baterie k přerušení kontaktu, písmeno „T“ se v okně nezobrazí. Jednotka by nyní měla správně fungovat. Máte-li však o její správné funkci pochybnosti, vložte baterii podle výše uvedeného postupu do přístroje znovu.

Přístroj **CrystalSpec** má interní indikátor dobití baterie. Při zobrazení výsledků vzorků se v pravém horním rohu okna zobrazí také úroveň dobití baterie („B0“ až „B5“). Bude-li baterie úplně dobitá, zobrazí se označení „B5“; zobrazí-li se označení „B0“, bude nutné baterii vyměnit.

Je-li úroveň dobití baterie tak nízká, že dojde k narušení integrity výsledků odečtu, zobrazí se v okně označení „X“ a přístroj baterii úplně vybijí. Nefelometr nezačne fungovat, dokud baterii nevyměníte.

POZNÁMKA: Po každé výměně baterie nebo po každém odpojení baterie z jednotky je nutné přístroj opět zkalibrovat.

POSTUP PŘI KALIBRACI: Přístroj **CrystalSpec** se nemusí nahřívat, takže je ihned připraven ke kalibraci a k použití. K přístroji jsou přiloženy kalibrační standardy **CrystalSpec** Calibration Blank (**B**) a **CrystalSpec** Calibration Standard (**S**); pro kalibraci přístroje použijte pouze tyto standardy. Abyste mohli zaručit správnost kalibrace přístroje, je vhodné provést interní chybovou kontrolu.

Nefelometr má interní funkce, které minimalizují potřebu provádět kalibrace často. Kalibraci provádějte pouze za těchto podmínek: (a) po každé výměně a každém odpojení baterie, (b) zobrazí-li se při odečtu hlášení „E“ a (c) vždy, když hodnota denního odečtu za použití kalibračního standardu Calibration Standard (S) nebude 1,9; 2,0 nebo 2,1.

Viz Postup při kalibraci, tabulka 2

1. Je-li objem vzorku, který je určen k měření, v rozmezí od 2,0 mL do 4,0 mL, vložte před kalibrací do přístroje dodaný adaptér pro vzorky s malým objemem. Je-li objem větší než 4,0 mL, *není* použit adaptér pro vzorky s malým objemem zapotřebí.
2. Pro snadnější kalibraci stiskněte tlačítko kalibrace prstem levé ruky a tlačítko testu prstem pravé ruky.
3. Pořadí stisknutí a uvolnění tlačítek je pro správnou kalibraci a přesnou funkci přístroje **CrystalSpec** nezbytně důležité.
4. Pokud se během kalibrace nezobrazí očekávaná hlášení, počkejte, dokud se displej nevymaže, a zahajte kalibrační postup znovu od kroku 1.
5. Pokud bude odečet kalibrace (krok 8) opět jiný než „2,0“, vyjměte kalibrační standard Calibration Standard, otřením vnějšího povrchu zkumavky látkou Kimwipe nebo jinou čistou látkou odstraňte veškeré šmouhy, otisky prstů apod. a spusťte kalibraci znovu.
6. Mezi jednotlivými odečty hodnot není zapotřebí kalibraci provádět; kalibrační standard **CrystalSpec** Calibration Standard (S) by však měl být odečten jako vzorek denně. Je-li odečet standardu hodnota 1,9; 2,0 nebo 2,1, kalibrace přístroje se zdařila a *není tedy nutné provádět kalibraci znovu*.
7. Kalibrace by měla být stabilní, pokud teplotní a světelné provozní podmínky zůstanou relativně stálé. Pokud se tyto podmínky změní, doporučujeme kalibraci zopakovat.
8. Tlačítko testu stiskněte až po úspěšném dokončení kalibračního postupu (až po úspěšném dokončení kroků 1–8). V opačném případě nebude přístroj **CrystalSpec** správně zkalibrován a hodnoty odečtů nebudou platné.

POSTUP PŘI TESTOVÁNÍ – Pro vzorky je nutné použít čiré skleněné zkumavky o průměru 16–17 mm s plochým dnem. Organismy lze suspendovat ve vodě, fyziologickém roztoku nebo neinokulovaném růstovém médiu se žlutým až světle hnědým zabarvením (např. v živné půdě Mueller-Hinton, TSB nebo BHI). Použití jiných barevných tekutin jako suspendujících médií nedoporučujeme. Minimální požadované množství tekutiny je 2,0 mL.

1. Je-li objem vzorku v rozmezí od 2,0 mL do 4,0 mL, vložte do přístroje adaptér pro vzorky s malým objemem. Je-li objem větší než 4,0 mL, není použit adaptér pro vzorky s malým objemem zapotřebí.
2. Promíchejte testovaný vzorek, a pokud se v něm objeví bublinky, ponechtejte jej chvíli odstát. Jemným poklepáním na zkumavku můžete odstraňování bublinek urychlit. Vložte zkumavku s testovaným vzorkem do nefelometru. Zkumavka musí být v přístroji umístěna co nejdále.
3. Stiskněte a poté uvolněte tlačítko testu [označeno zkumavkou]. Výsledek se zobrazí spolu s úrovní dobití baterie.
PŘÍKLAD: U vzorku odpovídajícího hodnotě 1,0 McFarlandovy normy v případě nutnosti dobití baterie přístroje se na displeji zobrazí toto hlášení:
„1.0 MCFARLAND B0“.
4. Je-li výsledek odečtu nižší, než jste očekávali, upravte přípravu vzorku pomocí více organismů. Je-li výsledek vyšší, než jste očekávali, upravte ji sterilním rozpouštědlem. Vzorek promíchejte a proveďte nový odečet.
5. Opakujte krok 4, dokud nedosáhnete požadovaného zakalení.
6. Zopakujte výše uvedené kroky 2–5 pro další vzorky.

VÝSLEDKY

Nefelometr **CrystalSpec** zobrazí výsledky měření v jednotkách McFarlandovy normy. Tyto odečty představují hustotu suspenze a lze jich využít při odhadování hodnoty CFU/mL testované suspenze.

OMEZENÍ POSTUPU

Nefelometr je nutné kalibrovat pomocí dodaných kalibračních standardů **CrystalSpec** Calibration Blank (B) a **CrystalSpec** Calibration Standard (S). Použití jiných standardů bude mít za následek nesprávnou kalibraci přístroje.

Kalibrační standard **CrystalSpec** je určen pouze pro kalibraci tohoto přístroje a ne jako vizuální, tj. manuální přiblížení MacFarlandově normě barytové běloby.

Nepoužívejte nefelometr **CrystalSpec** pro měření mimo rozmezí hodnot McFarlandovy normy 0,5–4,0.

Vzorky s objemem nižším než 2,0 mL nelze v přístroji měřit.

Pro vzorky je nutné použít čiré skleněné zkumavky o průměru 16–17 mm s plochým dnem.

Nejlépeších výsledků dosáhnete, použijete-li 9V alkalické baterie.

Chraňte před přímým slunečním zářením.

ÚČINNOST

Možnost reprodukce přístroje byla měřena pomocí standardů při koncentracích odpovídajících hodnotám zakalení 0,5, 1, 2, 3 a 4 McFarlandovy normy. Chyba při odhadu byla stanovena na $\pm 0,1$ jednotky McFarlandovy normy.

Aby byla stanovena přesnost nefelometru **CrystalSpec**, byl na suspenzích kmene *E. coli* ATCC 25922 připravených ve fyziologickém roztoku určen počet kolonií. Každý test byl proveden pětikrát. Průměrný počet na miskách je uveden v tabulce 1.

Tabulka 1

McFarlandova norma	Očekávaná hodnota CFU/mL x 10 ⁸	Upravená* hodnota CFU/mL x 10 ⁸	CV %
0,5	1,5	1,7	11,6
1,0	3,0	3,3	10,7
2,0	6,0	6,5	14,8
3,0	9,0	10,4	8,2
4**0	12,0	13,0	9,9

* Vzhledem k obtížnosti dosáhnout přesné cílové hustoty podle McFarlandovy normy byly tyto výsledky získány po odečtu přístroje **CrystalSpec** a úpravě zobrazené hodnoty CFU/mL, jako kdyby každé zředění bylo cílovou hustotou podle McFarlandovy normy.

** Pro výpočet upravené hodnoty CFU/mL a % CV byly použity čtyři replikáty.

ZÁRUKA: Společnost se zaručuje, že nefelometr **CrystalSpec** nebude po dobu jednoho roku od data zakoupení vykazovat žádné vady.

ÚDRŽBA A ŘEŠENÍ POTÍŽÍ: Žádná zvláštní údržba přístroje není zapotřebí. Je pouze nezbytné vyměňovat baterii, když indikátor dobití zobrazí nízkou úroveň dobití baterie – „B0“ nebo „E“.

Zobrazí-li se hlášení „E“, znamená to, že byl při interní chybové kontrole zjištěn problém způsobený nesprávným použitím, vybitou baterií nebo selháním softwaru. Pokud problém přetrvává i po kalibraci anebo výměně baterie, pokyny vám poskytne místní zástupce společnosti BD.

DOSTUPNOST

Kat. číslo Popis

245015 **BD CrystalSpec** Calibration Blank a **BD CrystalSpec** Calibration Standard, jeden kus v balení.

ODKAZY

1. McFarland, J. 1907. The nephelometer: an instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index for vaccines. *JAMA* 49:1176–1178.
2. Roessler, W.G., and C.R. Brewer. 1967. Permanent turbidity standards. *Appl. Microbiol.* 15:1114–1121.
3. Pugh, T.L., and W. Heller. 1957. Density of polystyrene and polyvinyl toluene latex particles. *J. Colloid Sci.* 12:173–180.
4. Mallette, M.F. 1969. XV. Evaluation of growth by physical and chemical means, p. 521-566. *In* J.R. Norris and D.W. Ribbons (ed.). *Methods in microbiology*, vol. 1. Academic Press Inc., New York.

Technická podpora: obraťte se na místního zástupce společnosti BD nebo navštivte www.bd.com/ds.

Tabulka 2
Kalibrační postup

Krok / tlačítko	Činnost	Displej
1. Kalibrace 	(Když je displej prázdný:) Stiskněte tlačítko a přidrže je až do kroku 3.	
2. Test 	Tlačítko stiskněte a poté uvolněte.	B
3. Kalibrace 	Uvolněte tlačítko.	B
4.	Vložte kalibrační standard Calibration Blank „B“.	
5. Kalibrace 	Tlačítko stiskněte a poté uvolněte.	S
6.	Vyjměte kalibrační standard Calibration Blank „B“.	
7.	Vložte kalibrační standard Calibration Standard „S“.	
8. Kalibrace 	Tlačítko stiskněte a poté uvolněte.	2,0 MCFARLAND

	Serial number / Серийный номер / Sériové číslo / Seriennummer / Seriennummer / Σειριακός αριθμός / N° de serie / Seerianumber / Numéro de série / Serijski broj / Sorozatszám / Numero di serie / Топтамалық нөмірі / 일련 번호 / Serijos numeris / Sērijas numurs / Serie nummer / Numer seryjny / Numéro de série / Număr de serie / Серийный номер / Seri numarası / Номер серії / 序列号
	Manufacturer / Производител / Výrobce / Fabrikant / Hersteller / Κατασκευαστής / Fabricante / Tootja / Fabricant / Proizvođač / Gyártó / Fabbicante / Атқарушы / 제조업체 / Gamintojas / Ražotājs / Tilvirker / Producent / Producător / Производитель / Výrobca / Proizvođač / Tillverkare / Üretici / Виробник / 生产厂商
	Catalog number / Каталоген номер / Katalógové číslo / Katalognummer / Αριθμός καταλόγου / Número de catálogo / Katalooginumber / Numéro catalogue / Kataloški broj / Katalógusszám / Numero di catalogo / Каталог номері / 카탈로그 번호 / Katalogo / numeris / Kataloga numurs / Catalogus nummer / Numer katalogowy / Număr de catalog / Номер по каталору / Katalógové číslo / Kataloški broj / Katalog numarası / Номер за каталором / 目录号
	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 / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Volitatud esindaja Euroopa Nõukogus / Représentant autorisé pour la Communauté européenne / Autorizuirani predstavnik u Europskoj uniji / Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségekben / Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea / Европа қауымдастығындағы уәкілетті өкіл / 유럽 공동체의 위임 대표 / Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / 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 zástupca v Európskom spoločenstve / Autorizovano predstavništvo u Evropskoj uniji / Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen / Avrupa Topluluğu Yetkili Temsilcisi / Уповноважений представник у країнах ЄС / 欧洲共同体授权代表
	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 διαγνωστική ιατρική συσκευή / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / In vitro diagnostika meditsiiniparatuur / 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 жүзгізетін медициналық диагностика аспабы / In Vitro Diagnostic 의료 기기 / In vitro diagnostikos prietaisai / Medicinas 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 / Dispozitiv medical pentru diagnostic in vitro / Медицинский прибор для диагностики in vitro / Medicinska pomôcka na diagnostiku in vitro / Medicinski uređaj za in vitro dijagnostiku / Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik / In Vitro Diyagnostik Tibbi Cihaz / Медицинский пристрій для діагностики in vitro / 体外诊断医疗设备
	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 / Koristi upute za upotrebu / Olvassa el a használati utasítást / Consultare le istruzioni per l'uso / Пайдалану нұсқаулығымен танысып алыңыз / 사용 지침 참조 / Skaitykite 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 / Kullanım Talimatları'na başvurun / Див. інструкції з використання / 请参阅使用说明



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



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

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

BD, BD Logo and CrystalSpec are trademarks of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD