

Kat.číslo:
MKM 03017, MKM 06040,
MKM 09028, MKM 06021,
MKM 43017, MKM 10176

Sabouraud agar

In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka
Len na profesionálne použitie



Návod na použitie

Účel určenia: Neselektívne kultivačné médium určené na izoláciu a kultiváciu kvasiniek a plesní z klinických i neklinických vzoriek.

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

Norma: ISO 11133
ISO 16212
European Pharmacopoeia

Skupina: Médium kultivačné tuhé – neselektívne a nediferenciálne

Alternatívny názov: Sabouraud glukózový agar, Sabouraud dextrose agar (SDA)

Princíp: Sabouraud agar je univerzálne médium na izoláciu a kultiváciu kvasiniek a plesní. Obsahuje peptóny, ktoré sú zdrojom dusíkových rastových faktorov, glukóza je zdrojom energie pre rast mikroorganizmov. Vysoká koncentrácia glukózy je výhodná pre rast (osmoticky stabilných) húb, keďže väčšina baktérií netoleruje vysokú koncentráciu cukru. Okrem toho je nízke pH optimálne pre huby, nie však pre mnohé baktérie.

Médium v skúmavkách je vhodné na udržiavanie kultúr. Norma ISO 11133 odporúča Sabouraud agar (SDA) ako referenčné médium.

Očakávané výsledky: Kmene kvasiniek a plesní: typický rast (farba, morfológia)

Zloženie

(v gramoch na liter média):

*Mykologický peptón	10
Glukóza	40
Agar	15

*Zmes pankreatický hydrolyzát kazeínu a peptický hydrolyzát živočíšnych tkanív (1:1)

pH: 5,6 ±0,2

Farba: svetlá

Poskytovaný materiál: Sabouraud 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, podľa potreby pomocné kultivačné média a činidlá na identifikáciu kolónií, inkubátor.

Typy vzoriek: Klinické vzorky: vzorky z vlasov, nechtov a kože, spútum, výtery z horných ciest dýchacích. Viac informácií v časti Obmedzenia testu.

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

Neklinické vzorky z rôznych priemyselných odvetví a vzorky pre monitoring hygieny.

Pracovný postup č. 1 (Kultivačné médium v Petriho miske alebo skúmavke): 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 naniest' 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.

Kat.číslo:
MKM 03017, MKM 06040,
MKM 09028, MKM 06021,
MKM 43017, MKM 10176

Sabouraud agar

In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka
Len na profesionálne použitie



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.

Neklinické vzorky

Stanovenie celkového počtu kvasiniek a plesní (TYMC) v súlade s European Pharmacopoeia:

Membránová filtrácia

Pripraviť vzorku a jej adekvátny objem prefiltrovať cez membránový filter. Následne membránový filter preniesť na povrch média Sabouraud agar. Takto naočkované misky obrátiť a inkubovať 5 až 7 dní pri 20 až 25 °C, aeróbne. Rast na miskách odčítat denne.

Po inkubácii spočítať všetky kolónie na povrchu membrány. Vypočítať celkový počet mikroorganizmov na ml vzorky vynásobením priemerného počtu kolónií na membránu faktorom riedenia. Výsledky uviesť ako jednotky tvoriace kolónie (CFU) na ml spolu s inkubačným časom a teplotou.

Metóda počítania kolónií na miske

Pripraviť vzorku, naniesť ju na povrch kultivačného média a následne rozočkovať na celú plochu misky a inkubovať 5 až 7 dní pri 20 až 25 °C, aeróbne. Vybrať misky zodpovedajúce danému riedeniu a vykazujúce najvyšší počet kolónií menší ako 50.,

Po inkubácii spočítať všetky kolónie na povrchu membrány. Vypočítať celkový počet mikroorganizmov na ml vzorky vynásobením priemerného počtu kolónií na membránu faktorom riedenia. Výsledky uviesť ako jednotky tvoriace kolónie (CFU) na ml spolu s inkubačným časom a teplotou.

Test *Candida albicans* v produktoch v súlade s European Pharmacopoeia

Pripraviť vzorku, preniesť ju do Sabouraud bujónu (nie menej ako 1 ml/ g vzorky do 100 ml Sabouraud bujónu). Inkubovať 3 až 5 dní pri 30 až 35 °C, aeróbne. Následne kultúru vyočkovať na misky Sabouraud agar a inkubovať 24 až 48 hodín pri 30 až 35 °C, aeróbne. Rast bielych kolónií môže indikovať prítomnosť *C.albicans*, čo je nevyhnutné potvrdiť ďalšími identifikačnými testami. Produkt vyhovuje testu, Produkt vyhovuje testu, ak takéto kolónie nie sú prítomné alebo ak sú potvrdzujúce testy negatívne.

Pracovný postup č.2 (Kultivačné médium v odtlačkovej Petriho miske)

Asepticky priložiť povrch média v Petriho miske na testovanú plochu a vziať odtlačok. Inkubovať za podmienok vid'. Podmienky kultivácie. Odčítat rast, počet kolónií a vyhodnotiť výsledok.

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

Pevné kultivačné média dodávané vo fľaške 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.

Pre metódu zaliatia vzorky nechať agar ochladiť na 45-47 °C, zaliat vzorku vo vhodnom nosiči, opatrne premiešať a inkubovať 5 až 7 dní pri 20 až 25 °C, aeróbne. Vybrať misky zodpovedajúce danému riedeniu a vykazujúce najvyšší počet kolónií menší ako 50.

Po inkubácii spočítať všetky kolónie na povrchu membrány. Vypočítať celkový počet mikroorganizmov na ml vzorky vynásobením priemerného počtu kolónií na membránu faktorom riedenia. Výsledky uviesť ako jednotky tvoriace kolónie (CFU) na ml spolu s inkubačným časom a teplotou.

Médium sa nesmie rozohrievať opakovane.

Kat.číslo:
MKM 03017, MKM 06040,
MKM 09028, MKM 06021,
MKM 43017, MKM 10176

Sabouraud agar

In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka
Len na profesionálne použitie



Podmienky kultivácie: 48 hodín pri 25 až 30 °C, aeróbne , resp. 5 až 7 dní pri 25 ± 2 °C, aeróbne

Kontrola kvality:

Mikroorganizmus	Rast	*Kritériá/ Miera produktivity(Pr)
<i>Candida albicans</i> CCM 8186	+	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> CCM 8191	+	≥ 0,7 (voči už overenej šarži Sabouraud agar)

***Rastové vlastnosti kultivačného média vyhovujú požiadavkám normy EN ISO 11133:2014.**

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 Sabouraud 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 pôd.

Je však zodpovednosťou koncového užívateľa 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 špecificitu, a to porovnaním výsledkov s predtým schválenou referenčnou šaržou.

Produktivita (Pr) je testovaná referenčnými kmeňmi cieľových mikroorganizmov - *Candida albicans* CCM 8186 a *Saccharomyces cerevisiae* CCM 8191, 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 25 až 30 °C počas 48 hodín, výsledky sa považujú za prijateľné a v súlade so špecifikáciami (viď Kontrola kvality). Produkt spĺňa deklarovaný výkon.

Obmedzenia testu: Médium nie je vhodné na zisťovanie a skrining prítomnosti prenosného pôvodcu nákazy alebo zisťovanie expozície prenosnému pôvodcovi nákazy v krvi, zložkách krvi, bunkách, tkanivách alebo orgánoch, alebo v akomkoľvek z ich derivátov, s cieľom posudzovať ich vhodnosť na transfúziu, transplantáciu alebo implantáciu či iný prenos buniek.

Médium nie je vhodné na priame očkovanie vzoriek krvi.

Sabouraud agar je médium na izoláciu a kultiváciu všetkých typov húb z klinických i neklinických vzoriek. Ide o slabu selektívne médium, preto vzorky, u ktorých sa predpokladá vysoká kontaminácia, sa odporúča naočkovať na produkt MKM03018 Sabouraud agar s CMP, prípadne jeho iné vyhotovenie.

Sabouraud agar je neselektívne médium, na ktorom rastie široká škála mikroorganizmov. Na konečnú identifikáciu izolovaných kolónií je nutné použiť biochemické, imunologické, molekulárne testy alebo hmotnostnú spektrometriu. V prípade potreby vykonať testy antimikrobiálnej citlivosti.

Kat.číslo:
MKM 03017, MKM 06040,
MKM 09028, MKM 06021,
MKM 43017, MKM 10176

Sabouraud agar

In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka
Len na profesionálne použitie



Niektoré patogénne huby môžu vytvárať infekčné spóry, ktoré sa veľmi ľahko dostávajú do ovzdušia. Z tohto dôvodu odporúčame testy prevádzať v špeciálne upravenej miestnosti.

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 od 3 do 6 mesiacov odo dňa výroby, v závislosti od vyhotovenia (Fľaška 3 mesiace, Petriho miska 6 mesiacov).

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.

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

Sabouraud 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.).

Kat.číslo:
MKM 03017, MKM 06040,
MKM 09028, MKM 06021,
MKM 43017, MKM 10176

Sabouraud agar

In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka
Len na profesionálne použitie



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.

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 Sabouraud 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 deklarovávaným výkonom a iných nedostatkov tejto in vitro diagnostickéj 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 03017-005	Petriho miska 90 mm, 18 ml (PM90)	-	5 ks
MKM 03017-010	Petriho miska 90 mm, 18 ml (PM90)	-	10 ks
MKM 03017-020	Petriho miska 90 mm, 18 ml (PM90)	-	20 ks
MKM 03017-120	Petriho miska 90 mm, 18 ml (PM90)	-	120 ks
MKM 06021-010	Skúmavka – šikmý, 5 ml	(šikmý)	10 ks
MKM 06040-010	Skúmavka (16x100) – šikmý, 3 ml	(sk.16x100, šikmý)	10 ks
MKM 09028-001	Fľaška, 500 ml	(500 ml)	Ks
MKM 10176-001	Fľaška, 180 ml	(180 ml)	Ks
MKM 43017-005	Petriho miska -odtlačok	(otlačok)	5 ks
MKM 43017-010	Petriho miska -odtlačok	(otlačok)	10 ks
MKM 43017-020	Petriho miska -odtlačok	(otlačok)	20 ks
MKM 43017-030	Petriho miska -odtlačok	(otlačok)	30 ks
MKM 43017-240	Petriho miska -odtlačok	(otlačok)	240 ks

Kat.číslo: MKM 03017, MKM 06040, MKM 09028, MKM 06021, MKM 43017, MKM 10176	Sabouraud agar In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka Len na profesionálne použitie	
--	--	--

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. Difco™ & BBL™ Manual, Second Edition
2. <https://himedialabs.com/TD/M063.pdf> [13.09.2021]
3. <https://microbiologyinfo.com/sabouraud-dextrose-agar-sda-composition-principle-uses-preparation-and-colony-morphology/> [13.09.2021]
4. Votava M. Kultivační půdy v lékařské mikrobiologii. 1. vydání; Hortus; 2000.
5. STN EN ISO 16212 Kozmetické výrobky. Mikrobiológia. Stanovenie počtu kvasiniek a plesní (ISO 16212:2017)
6. STN EN ISO 11133 Mikrobiológia potravín, krmív a vody. Príprava, výroba, uchovávanie a skúšky výkonnosti kultivačných médií (ISO 11133: 2014, opravená verzia z 1. 11. 2014)
7. European Pharmacopoeia. 9.3

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	13.09.2021
	3	Aktualizácia a doplnenie údajov v časti: Účel určenia, Charakteristika výkonu Bezpečnostné upozornenia a varovania	09.10.2021