


<b>Kat.číslo:</b> <b>MKM 04017</b>	<b>Legionella BCYE agar</b> In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka Len na profesionálne použitie	
---------------------------------------	--	--

## Návod na použitie

**Účel určenia:** Neselektívne kultivačné médium je určené na izoláciu a kultiváciu *Legionella spp.* z klinických vzoriek a vzoriek vody.

Legionella BCYE 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:** Legionella BCYE agar umožňuje selektívnu kultiváciu rôznych druhov rodu *Legionella*. Médium neobsahuje peptón ani mäsovú infúziu, len kvasničný extrakt ako zdroj živín a vitamínov, aktívne uhlie slúžiace ako detoxikans, prípadne k úprave povrchového napätia a agar. Optimálne pH ( $6.85 \pm 0.1$ ) zaisťuje tlmivý systém ACES. Médium ďalej obsahuje  $\alpha$ -ketoglutarát draselný, pyrofosfát železitý a L-cysteín, čo je aminokyselina pre *Legionella* nevyhnutná.

Legionella BCYE agar je médium odporúčané normou ISO 11731 a ISO 11731-2.

**Očakávané výsledky:** *Legionella pneumophila*: kolónie bielosivej až modrosivej

**Zloženie**  
(v gramoch na liter média):

Kvasničný extrakt	10
Pyrofosfát železa	0,25
ACES pufr	10
Aktívne uhlie	2
$\alpha$ -ketoglutarát	1
Hydroxid draselný	2,4
Agar	15
L-cysteín	0,4

**pH:**  $6,85 \pm 0,1$

**Farba:** čierna

**Poskytovaný materiál:** Legionella BCYE – 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 horných dýchacích ciest. 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: vzorky vody. Pri odbere, transporte, skladovaní a úprave neklinických vzoriek dodržujte príslušné normy.

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

### Klinická vzorka:

Pred samotnou inokuláciou je potrebné upraviť vzorku, a to zriedením 1:10 v Tryptón sójovom bujóne, alebo v prípade hustého spúta je potrebné ho rozrušiť a stekutiť za použitia napr. Broncholyzín 2 %.Plus.

<b>Kat.číslo:</b> <b>MKM 04017</b>	<b>Legionella BCYE agar</b> In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka Len na profesionálne použitie	
---------------------------------------	--	--

Pre zníženie kontaminujúcej mikroflóry je potrebné vzorku zriediť v pomere 1:10 KCl – HCl pufrom – napr. Tlmivý roztok pre legionely - s nízkym pH (pH 2,2) (MKM 10294 alebo MKM 10032).

Upravený klinický materiál/ vzorku asepticky naniesť na povrch kultivačného média (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.

**Kultivácia *Legionella spp.* v súlade s ISO 11731 a ISO 11731-2:**

**Príprava vzorky a postup:**

Úprava vzorky teplom: umiestniť vzorku do vodného kúpeľa na 30+/-2 minúty pri teplote 50 °C

Úprava vzorky kyselinou: 1 časť vzorky vložiť do 9 častí Tlmivej vody pre legionely (MKM 10032 alebo MKM10294).

Úprava membránových filtrov kyslým roztokom: 30 ml Tlmivej vody pre legionely (MKM 10032) naliať na membránový filter a nechať pôsobiť 5 minút. Filter vybrať z roztoku a prepláchnuť destilovanou vodou alebo Ringer roztokom (MKM 10025).

PV prípade, že vzorka obsahuje vysokú koncentráciu kmeňov *Legionella spp.* a nízku koncentráciu rušivej mikroflóry, priamo naočkovať 0,1 až 0,5 ml vzorky na platňu Legionella BCYE agar a na platňu Legionella GVPC (MKM X4017). Inkubovať za podmienok vid'. Podmienky kultivácie, Legionella GVPC inkubovať až do 10 dní.

V prípade, že vzorka obsahuje nízku koncentráciu *Legionella spp.* a nízku koncentráciu rušivej mikroflóry, prefiltrovať prvotnú vzorku cez membránový filter, následne filter umiestniť na povrch platne s Legionella BCYE agar. Postup zopakovať s médiom Legionella GVPC (MKM X4017). Inkubovať za podmienok vid'. Podmienky kultivácie, Legionella GVPC inkubovať až do 10 dní.

V prípade, že vzorka obsahuje vysokú koncentráciu rušivej mikroflóry, vzorku rozdeliť na 3 časti, pričom prvú ponechať bez úpravy, druhú upraviť tepelne a tretiu kyslým roztokom. Zo všetkých troch typov vzorky odobrať po 0,1 až 0,5 ml a naočkovať na platne Legionella BCYE agar a Legionella GVPC agar (MKM X4017). Inkubovať 7 až 10 dní, pri 36±2°C, aeróbne.

Najmenej 3 typické kolónie z každej platne po inkubácii vyočkovať na platne Legionella BCYE bez cysteínu (MKM 10089) a Legionella BCYE. Inkubovať 48 hodín až 5 dní, pri 36±2°C, aeróbne. Kolónie, ktoré budú rásť na Legionella BCYE bez cysteínu sú považované za *Legionella*.

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:**

48 hodín až 5 dní, prípadne až do 10 dní pri 36±2°C, aeróbne, pri zvýšenej vlhkosti

**Kontrola kvality:**

Mikroorganizmus	Rast	*Kritériá/ Miera produktivity (P <sub>R</sub> )
<i>Legionella pneumophilla</i> CCM 7799	+, bielosivé až modrosivé kolónie	≥ 0,7 (voči už overenej šarži Legionella BCYE)
<i>Staphylococcus aureus</i> CCC M3953	+	
<i>Escherichia coli</i> CCM 3954	+	
Neinokulované médium	-	

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

<b>Kat.číslo:</b> <b>MKM 04017</b>	<b>Legionella BCYE agar</b> In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka Len na profesionálne použitie	
---------------------------------------	--	--

**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 Legionella BCYE 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 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 špecificitu, a to porovnaním výsledkov s predtým schválenou referenčnou šaržou

Produktivita (Pr) je testovaná referenčným kmeňom cieľového mikroorganizmu *Legionella pneumophilla* CCM 7799, 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  $35 \pm 2$  °C počas 48 hodín, výsledky sa považujú za prijateľné a v súlade so špecifikáciami. Produkt spĺňa deklarovaný výkon.

**Obmedzenia testu:** Legionella BCYE agar je neselektívne médium. Misky s charakteristickým rastom a s kolóniami pravdepodobne identifikovanými ako Legionella musia byť potvrdené ďalšími testami. Na konečnú identifikáciu izolovaných kolónií je nutné použiť biochemické, imunologické, molekulárne testy alebo hmotnostnú spektrometriu.

Médium neinkubujte v atmosfére s koncentráciou CO<sub>2</sub> nad 2,5 %, pretože môže byť inhibovaný rast *L.pneumophila*.

Nie všetky Legionella-pozitívne vzorky môžu byť identifikované jedinou kultivačnou metódou, preto sa odporúča použiť kombináciu neselektívnych a selektívnych médií

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 4 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 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 znížiť zložky kultivačného média, čo ovplyvní výkon média.

<b>Kat.číslo:</b> <b>MKM 04017</b>	<b>Legionella BCYE agar</b> In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka Len na profesionálne použitie	
---------------------------------------	--	--

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**

Legionella BCYE 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 distribučnému 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 diagnostické 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 nezabavujú konečného používateľa zodpovednosti za kontrolu vhodnosti produktu Legionella BCYE agar na zamýšľaný účel. Vždy musia byť sledované a dodržiavané platné zákony, nariadenia a štandardné postupy pri manipulácii so vzorkami.

<b>Kat.číslo:</b> <b>MKM 04017</b>	<b>Legionella BCYE agar</b> In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka Len na profesionálne použitie	
---------------------------------------	--	--

V prípade zistenia poškodenia, nehody s deklaroványm výkonom a iných nedostatkov tejto in vitro diagnostickej pomôcky hlásiť okamžite po zistení výrobcovi na e-mailovú adresu [obchod@mkbtest.sk](mailto: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 04017-005	Petriho miska 90 mm, 18 ml (PM90)	-	5 ks
MKM 04017010	Petriho miska 90 mm, 18 ml (PM90)	-	10 ks
MKM 04017-020	Petriho miska 90 mm, 18 ml (PM90)	-	20 ks
MKM 04017-120	Petriho miska 90 mm, 18 ml (PM90)	-	120 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:**

- <https://microbenotes.com/buffered-charcoal-yeast-extract-bcye/>
- Difco™ & BBL™ Manual, Second Edition
- Votava M. Kultivační pŕdy v lékařské mikrobiologii. 1. vydání; Hortus; 2000
- STN EN ISO 11731. Kvalita vody. Stanovenie počtu baktérií Legionella (ISO 11731:2017)
- STN EN ISO 11731-2. Kvalita vody. Stanovenie Legionella. Časť 2: Metóda priamej membránovej filtrácie pre vody s malým počtom baktérií (ISO 11731-2:2004)
- 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)

**Výrobca:**

**MkB Test a.s.**  
Rosina 169  
013 22 Rosina  
Slovenská republika  
Tel: (+421) 41 500 3555  
[www.mkbtest.sk](http://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	09.10.2021