



Kat.číslo: MKM04024 MKM04075	TCBS agar In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka Len na profesionálne použitie	
---	---	--

Návod na použitie

Účel určenia:	<p>Selektívne a diferenciatívne kultivačné médium určené na izoláciu choleroých vibrií a <i>Vibrioparahaemolyticus</i> z klinických a iných vzoriek.</p> <p>TCBS agar je kvalitatívna in vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka, určená na pomoc pri diagnostike infekčných ochorení. Len na profesionálne použitie.</p>																						
Norma:	ISO/TS 21872-1, ISO 11133																						
Skupina:	Médium kultivačné tuhé – selektívne a diferenciatívne																						
Princíp:	<p>Živným základom média je kvasničný extrakt a proteózový peptón. Selektívnym činidlom tohto média je hovädzia žlč, citrát sodný a vysoké pH (8,6). Tieto limitujúce podmienky zamedzujú rast väčšiny mikroorganizmov okrem vibrií. Substrátom média je tiosíran sodný a sacharóza. Citrát železito-amónny, bromthymolová modrá a thymolová modrá slúžia ako indikátory. <i>Vibria</i> štiepiace sacharózu rastú ako veľké žlté kolónie (<i>V. cholerae</i>, <i>V. alginolyticus</i>, <i>V. metchnikovii</i>, <i>V. fluvialis</i>), vibria neštiepiace sacharózu rastú ako modré kolónie so zeleným stredom (<i>V. parahaemolyticus</i>, <i>V. vulnificus</i>, <i>V. mimicus</i>).</p> <p>TCBS agar je médium odporúčané normou ISO/TS 21872-1.</p>																						
Očakávané výsledky:	<p><i>Vibrio cholerae</i>: veľké žlté kolónie</p> <p><i>Vibrioparahaemolyticus</i>: kolónie s modrým až zeleným stredom</p> <p><i>Vibrio alginolyticus</i>: veľké žlté kolónie</p>																						
Zloženie (v gramoch na liter média):	<table border="1"> <tr><td>Kvasničný extrakt</td><td>5</td></tr> <tr><td>Proteózový peptón</td><td>10</td></tr> <tr><td>Citrát sodný</td><td>10</td></tr> <tr><td>Tiosíran sodný</td><td>10</td></tr> <tr><td>Býčia žlč sušená</td><td>8</td></tr> <tr><td>Sacharóza</td><td>20</td></tr> <tr><td>Chlorid sodný</td><td>10</td></tr> <tr><td>Citrát železito-amónny</td><td>1</td></tr> <tr><td>Bromthymolová modrá</td><td>0,04</td></tr> <tr><td>Thymolová modrá</td><td>0,04</td></tr> <tr><td>Agar</td><td>15</td></tr> </table>	Kvasničný extrakt	5	Proteózový peptón	10	Citrát sodný	10	Tiosíran sodný	10	Býčia žlč sušená	8	Sacharóza	20	Chlorid sodný	10	Citrát železito-amónny	1	Bromthymolová modrá	0,04	Thymolová modrá	0,04	Agar	15
Kvasničný extrakt	5																						
Proteózový peptón	10																						
Citrát sodný	10																						
Tiosíran sodný	10																						
Býčia žlč sušená	8																						
Sacharóza	20																						
Chlorid sodný	10																						
Citrát železito-amónny	1																						
Bromthymolová modrá	0,04																						
Thymolová modrá	0,04																						
Agar	15																						
pH:	8,6 ± 0,2																						
Farba:	zelená																						
Poskytovaný materiál:	TCBS 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:	<p>Klinické vzorky: vzorky stolice a rektálne výtery. Vzorky odoberať ešte pred antimikrobiálnou liečbou. Pri odbere, transporte a skladovaní klinických vzoriek dodržujte správne laboratórne postupy. Viac informácií v časti Obmedzenia testu.</p> <p>Neklinické vzorky: environmentálne vzorky, vzorky potravín a plodov mora. Pri odbere, transporte, skladovaní a úprave neklinických vzoriek dodržujte príslušné normy.</p>																						
Pracovný postup:	Vzorky naočkovať čo najskôr po prijatí vzorky do laboratória. Pred očkovaním nechať platne vytemperovať na izbovú teplotu a vysušiť povrch média.																						

Kat.číslo: MKM04024 MKM04075	TCBS agar In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka Len na profesionálne použitie	
---	---	--

Klinické vzorky:

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.

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.

Detekcia potenciálne enteropatogénnych Vibriospp. v súlade s ISO 21872:

1. Vzorku (25 g alebo 25 ml) homogenizovať a obohatiť v 225 ml Alkalickej peptónovej vody (MKM 10281). Inkubovať 6 hodín pri 41,5 ± 1°C a/ alebo 37 ± 1°C.
2. Následne vyočkovať na selektívne pevné médium TCBS agar a inkubovať 24 ± 3 hodín pri 37 ± 1°C.
3. Súčasne 1 ml suspenzie z prvého obohatenia vyočkovať opätovne do 10 ml Alkalickej peptónovej vody (MKM 08027) a inkubovať 18 hodín pri 41,5 ± 1°C a/ alebo 37 ± 1°C.
4. Kultúru získanú druhým obohatením v Alkalickej peptónovej vode vyočkovať na pevné selektívne médium TCBS agar. Inkubovať 24 ± 3 hodín pri 37 ± 1°C.
5. Podozrivé kolónie subkultivovať a potvrdiť biochemickými testami a PCR testami.

Podmienky kultivácie:

18 až 24 hodín pri 35 ± 2°C, aeróbne (klinické vzorky)
 24 ± 3 hodín pri 37 ± 1°C, aeróbne (pre neklinické vzorky)

Kontrola kvality:

Mikroorganizmus	Rast	*Kritériá/ Miera produktivity (P _R)
<i>Vibriopara haemolyticus</i> CCM5937	+, kolónie so zeleným stredom (sacharóza negatívne)	dobrý rast (2)
<i>Escherichia coli</i> CCM3954	-	úplná inhibícia (0)

*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%.

Dodatčná kontrola kvality používateľom:


Všetky vyrobené šarže produktu TCBS 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 selektivitu, a to porovnaním výsledkov s predtým schválenou referenčnou šaržou.

Produktivita (Pr) je testovaná referenčným kmeňom cieľového mikroorganizmu - *Vibriopara haemolyticus* CCM5937, s použitím inokula ≤ 100 KTJ.

Kat.číslo: MKM04024 MKM04075	TCBS agar In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka Len na profesionálne použitie	
---	---	--

Selektivita je testovaná referenčným kmeňom necieľového mikroorganizmu - *Escherichiacoli*CCM3954, 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 $35 \pm 2^\circ\text{C}$ počas 24 až 48 hodín v aeróbnej atmosfére, výsledky sa považujú za prijateľné a v súlade so špecifikáciami. Produkt spĺňa deklarovaný výkon.

Obmedzenia postupu:

Niektoré kmene *Vibriospp.* rastú zle alebo nerastú na tomto médiu.

Po vybratí média z inkubátora je nutne ihneď odčítať výsledky, pretože žltá farba kolónií sa pri izbovej teplote, pri predĺženom testovaní, ako aj pri uskladnení platní po inkubácii v chladničke, rýchlo mení do zelena.

Niekoľko kmeňov *V. cholerae* sa môže na TCBS agare javiť ako zelené alebo bezfarebné v dôsledku oneskorenej fermentácie sacharózy.

Médium by sa malo silne naočkovať vzorkami stolice, pretože v dôsledku fermentácie sacharózy a akumulácie kyselín môže byť na médiu inhibovaný rast niekoľkých druhov.

Príležitostné izoláty *Pseudomonas* a *Aeromonas* však môžu tiež vytvárať modrozelené kolónie na TCBS agare.

Pri počiatočnej izolácii môže byť *V. parahaemolyticus* zamenený s *Aeromonas hydrophila*, *Plesiomonas shigelloides* a *Pseudomonas spp.*

Proteus spp. vytvárajú žlté kolónie, ktoré môžu pripomínať kolónie *Vibrio*.

Oxidázové a aglutinačné testy sú nespoľahlivé, ak sa vykonávajú priamo na kolóniách rastúcich na tomto médiu. Na oxidázové a aglutinačné testy by sa mal použiť rast z média neobsahujúceho cukor, ako je krvný agar alebo živý agar.

Niektoré kmene *Proteus* a enterokoky môžu vykazovať rast a vytvárať malé bezfarebné kolónie, tieto organizmy sa však dajú ľahko rozlíšiť. Akékoľvek koliformné baktérie, ktoré môžu rásť, nemetabolizujú sacharózu.

Na optimálnu obnovu patogénnych organizmov sa odporúča používať neselektívne médiá v spojení so selektívnymi médiami.

Akákoľvek H₂S negatívna kolónia agaru TCBS sa môže považovať za pravdepodobne pozitívnu na *Vibrio*.


Aj keď sú mikrobiálne kolónie na platniach odlišné 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 5 mesiacov 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.

Kat.číslo: MKM04024 MKM04075	TCBS agar In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka Len na profesionálne použitie	
---	---	--

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 znehodnotiť 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:

Použitú a nepoužitú, či kontaminované produkty likvidovať ako **NEBEZPEČNÝ odpad** v zmysle platných legislatívnych predpisov a interných postupov.

Bezpečnostné a varovania:

upozornenia

TCBS 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 smernice (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.**

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.

Kat.číslo: MKM04024 MKM04075	TCBS 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 nezavádzajú konečného používateľa zodpovednosti za kontrolu vhodnosti produktu TCBS 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 diagnostickej zdravotníckej 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
MKM04024-005	Petriho miska 90 mm, 18 ml (PM90)	-	5 ks
MKM 04024-010	Petriho miska 90 mm, 18 ml (PM90)	-	10 ks
MKM 04024-020	Petriho miska 90 mm, 18 ml (PM90)	-	20 ks
MKM 04024-120	Petriho miska 90 mm, 18 ml (PM90)	-	120 ks
MKM04075-005	Petriho miska 90 mm, 25 ml	(25 ml)	5 ks
MKM 04075-010	Petriho miska 90 mm, 25 ml	(25 ml)	10 ks
MKM 04075-020	Petriho miska 90 mm, 25 ml	(25 ml)	20 ks
MKM 04075-120	Petriho miska 90 mm, 25 ml	(25 ml)	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/thiosulfate-citrate-bile-salts-sucrose-tcbs-agar/> [30.07.2021]
- Difco™ & BBL™ Manual, Second Edition
- ISO/TS 21872-1 Mikrobiológia potravinárskeho reťazca. Horizontálna metóda na dôkaz potenciálne enteropatogénnych baktérií *Vibrioparahaemolyticus*, *Vibriocholerae* a *Vibriovulnificus* (ISO 21872-1:2017)
- 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

Kat.číslo: MKM04024 MKM04075	TCBS agar In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka Len na profesionálne použitie	
---	---	--

Kat.číslo: MKM04024 MKM04075	TCBS agar In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka Len na profesionálne použitie	
---	---	--

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	05.09.2021
	3	Aktualizácia a doplnenie údajov v časti: Účel určenia, Charakteristika výkonu Bezpečnostné upozornenia a varovania	04.11.2021