


<b>Kat.číslo:</b> <b>MKM04053</b> <b>MKM 10044</b> <b>MKM 10299</b>	<b>Žlč-eskulin-azid agar</b> In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka Len na profesionálne použitie	
--	---	--

### Návod na použitie

**Účel určenia:** Selektívne a diferenciálne kultivačné médium určené na predbežnú identifikáciu enterokokov a streptokokov skupiny D z klinických a iných vzoriek.

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

**Norma:** ISO 7899-2

**Skupina:** Médium kultivačné tuhé – selektívne a diferenciálne

**Princíp:** Žlč-eskulin-azid agar je selektívne a diferenciálne kultivačné médium. Živným základom tohto diagnostického kultivačného média je enzymatický hydrolyzát kazeínu, mäsový peptón a kvasničný extrakt, ktoré slúžia ako zdroje uhlíka, dusíka, aminokyselín, vitamínov a základných živín. Médium obsahuje eskulín, ktorý majú enterokoky a streptokoky skupiny D schopnosť hydrolyzovať na eskuletín a glukózu, čo v prítomnosti citrátželezitoamónneho vedie ku vzniku hnedočiernej zrazeniny. Žlč a azid sodný inhibujú väčšinu sprievodných baktérií.

Médium zodpovedá norme STN EN ISO 7899-2: Kvalita vody. Stanovenie črevných enterokokov. Časť 2: Metóda membránovej filtrácie (ISO 7899-2: 2000)

**Očakávané výsledky:** *Enterococcus* spp., *Streptococcus* D: rast dobrý, sčernanie média pozdĺž vpichu  
 Ostatné streptokoky: slabý rast až inhibícia, bez sčernania média

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

Enzymatický hydrolyzát kazeínu (Tryptón)	17
Mäsový peptón	3
Kvasničný extrakt	5
Býčia žlč	10
Chlorid sodný	5
Eskulín	1
Citrátželezitoamónny	0,5
Azid sodný	0,15
Agar	15

**pH:** 7,2 ± 0,2

**Farba:** Svetlá

**Poskytovaný materiál:** Žlč-eskulin-azidagar – 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 stolice, čistá izolovaná kultúra bakteriálneho kmeňa, Neklinické vzorky: vzorky vody a potravín (za použitia metódy membránovej filtrácie).

Viac informácií v časti Obmedzenia testu.

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

**Pracovný postup č.1 (Kultivačné médium v Petriho miske):** Vzorky naočkovať čo najskôr po prijatí vzorky do laboratória. Pred očkovaním nechať platne a fľaše vytemperovať na izbovú teplotu a vysušiť povrch média.

Suspektné kolónie v čistej kultúre/ vzorky asepticky naniesť na povrch kultivačného média (otermom výterového tampónu alebo sterilnou kľučkou) a následne rozočkovať na celú plochu misky pre účely izolácie čistých kultúr zo vzoriek so

Kat.číslo:  
MKM04053  
MKM 10044  
MKM 10299

# Žič-eskulin-azid agar

In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka  
Len na profesionálne použitie



zmiešanou flórou. Inkubovať za podmienok vid'. Podmienky kultivácie.

Na určenie izolovaných kolónií je nutné použiť ďalšie identifikačné metódy

### V prípade testovania vody metódou membránovej filtrácie:

Podozrivé vzorky vody filtrovať pomocou membránových filtrov. Tieto membránové filtre následne asepticky umiestniť na Slanetz-Bartley agar (MKM 03041).a inkubovať 44 ± 4 hodín pri 36 ± 2 °C v aeróbných podmienkach. Červené alebo gaštanovo sfarbené kolónie pozorované po inkubácii sa ďalej potvrdia.

Asepticky preniesť membránový filter z média Slanetz-Bartley agar na platňu Žič eskulinazid agar, predhriať na 44 °C a inkubovať pri 44 ± 0,5 °C počas 2 hodín. Všetky typické kolónie vykazujúce v okolitom médiu hnedočierne sfarbenie sú považované za črevné enterokoky. Alternatívne možno Žič eskulinazid agar použiť na priamu izoláciu enterokokov bez membránového filtra, a následne inkubovať pri 35 až 37°C počas 18 až 24 hodín.

Postupovať v súlade s príslušnými normami.

### **Pracovný postup č.2 (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 vloženíím do vodného kúpeľa. Médium následne ochladiť a rozplniť do požadovaných nosičov - Petriho misky. Následne pokračovať spôsobom udaným v Pracovný postup č.1.

Pre metódu zalatia vzorky nechať agar ochladiť na 45-50 °C, zaliať vzorku vo vhodnom nosiči, opatrne premiešať a inkubovať za podmienok vid'. **PODMIENKY INKUBÁCIE.**

Na určenie izolovaných kolónií je nutné použiť ďalšie identifikačné metódy.

Médium sa nesmie prehrievať a 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 ± 1°C, aeróbne

### **Kontrola kvality:**

Mikroorganizmus	Rast	Hydrolýza eskulínu
<i>Enterococcus faecalis</i> CCM 4224	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i> CCM 3953	+	-
<i>Streptococcus pyogenes</i> CCM 4425	-	-
<i>Escherichia coli</i> CCM 3954	-	-

Hydrolýza eskulínu (+) – sčernanie média


Hydrolýza eskulínu (-) – bez farebnej zmeny

### **Mikrobiologický stav:**

Kultivačné média 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 Žič-eskulin-azid agar sú uvoľnené do predaja až po vykonaní kontroly kvality v akreditovanom laboratóriu, kde je overená

<b>Kat.číslo:</b> <b>MKM04053</b> <b>MKM 10044</b> <b>MKM 10299</b>	<b>Žič-eskulin-azid agar</b> In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka Len na profesionálne použitie	
--	---	--

zhodaso 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 kvalityrastu.

**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 referenčnými kmeňmi cieľových mikroorganizmov - : *Enterococcusfaecalis*CCM 4224 a *Staphylococcusaureus*CCM 3953, s použitím inokula  $\leq 100$  KTJ.

Selektivita je testovaná referenčnými kmeňmi necieľových mikroorganizmov - *Streptococcuspyogenes*CCM4425 a *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 farbukolónií typickú pre dané médium, a potvrdená je inhibícia u necieľových mikroorganizmov po kultivácii pri  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  počas 18 až 24 hodín v aeróbnej atmosfére, výsledky sa považujú za prijateľné a v súlade so špecifikáciami, produkt spĺňa deklarovaný výkon.

**Obmedzeniatestu:**

Na identifikáciu musí byť použitá čistá kultúra.

Niektoré kmene cieľových mikroorganizmov môžu vykazovať slabý rast.

Niekoľko mikroorganizmov môže počas metabolizmu produkovať  $\text{H}_2\text{S}$ , ktorý môže reagovať so železom a vytvárať čierny komplex, ktorý interferuje s výsledkami testu hydrolýzy eskulínu a môže poskytnúť falošne pozitívny výsledok.

Aj keď sú mikrobiálne kolónie na platniach odlišené na základe ich morfológických a chromatickýchcharakteristík, 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 od 3 do 5 mesiacov do dňa výroby, v závislosti od vyhotovenia (Fľaška 3 mesiace, Petriho miska 5 mesiacov)


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.

Po otvorení originálneho obalu spotrebovať do 24 hod.

**Skladovanie:**

pri  $+2$  až  $+8^\circ\text{C}$ , v tme, v originálnom balení.

Zabrániť prehriatiu alebo premrznutiu výrobku. Zmrazenie môže poškodiť gélovú konzistenciu tuhých médií a dlhodobejšie skladovanie pri vyššej ako odporúčanej

<b>Kat.číslo:</b> <b>MKM04053</b> <b>MKM 10044</b> <b>MKM 10299</b>	<b>Žič-eskulin-azid agar</b> In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka Len na profesionálne použitie	
--	---	--

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 a fľašiach.

Zabezpečiť uloženie a skladovanie v smere šípky  $\uparrow\uparrow$  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:** Použité a nepoužité, či kontaminované produkty likvidovať ako NEBEZPEČNÝ odpad v zmysle platných legislatívnych predpisov a interných postupov.

**Bezpečnostné upozornenia a varovania:** Žič-eskulin-azid 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 môže obsahovať 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, vdychnutiu 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 použitých čipov alebo 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.

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 žič-eskulin-azid 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>MKM04053</b> <b>MKM 10044</b> <b>MKM 10299</b>	<h1>Žič-eskulin-azid agar</h1> <p>In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka          Len na profesionálne použitie</p>	
--	---	--

V prípade zistenia poškodenia, nehody s deklarovaným výkonom a iných nedostatkov tejto in vitro diagnostickej zdravotníckej pomôcky hlásite okamžite po zistení výrobcovi na e-mailovú adresu [obchod@mkbtest.sk](mailto:obchod@mkbtest.sk). v prípade závažnej nehody spôsobenej pomôckou, hlásite túto udalosť príslušným orgánom a výrobcovi na vyššie uvedenú adresu.

**Dostupné vyhotovenia:**

Kat. č.	Vyhotovenie	Doplňujúce označenie	Balenie
MKM 04053-005	Petriho miska 90 mm, 18 ml	-	5 ks
MKM 04053-010	Petriho miska 90 mm, 18 ml	-	10 ks
MKM 04053-020	Petriho miska 90 mm, 18 ml	-	20 ks
MKM 04053-120	Petriho miska 90 mm, 18 ml	-	120 ks
MKM 10044-001	Fľaša, 180 ml	(180 ml)	Ks
MKM 10299-001	Fľaša, 500 ml	(500 ml)	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://himedialabs.com/TD/M493.pdf>[05.09.2021]
- Votava M. Kultivační pŕdy v lékařskémikrobiologii. 1. vydání; Hortus; 2000
- STN EN ISO 7899-2. Kvalita vody. Stanovenie črevných enterokokov. Časť 2: Metóda membránovej filtrácie (ISO 7899-2: 2000)

**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	13.02.2019
	2	Aktualizácia a doplnenie obsahu v súlade s IVDR 2017/746	05.09.2021
	3	Doplnenie Charakteristiky výkonu, doplnenie informácií do Bezpečnostné upozornenia a varovania, Účel určenia	04.11.2021