

SK

ÚČEL URČENIA A POPIS

Súprava je určená ku stanoveniu minimálnej inhibičnej koncentrácie (MIC) kvasiniek. Hodnota MIC zodpovedá najnižšej koncentrácii antimikrobiálnej látky, ktorá vedie k viditeľnému obmedzeniu rastu mikroorganizmu.

PRINCÍP

Súprava sa skladá z mikrotitračnej doštičky v 96 jamkovom formáte obsahujúcej dehydratované antimikrobiálne látky tvoriace zostupný koncentračný gradient a ďalšie pomocné látky potrebné pre stanovenie hodnôt MIC. Rehydratácia prebieha v suspenznom médiu so suspenziou kvasiniek. Vzorka je po inkubácii vyhodnotená vizuálne.

OBSAH SÚPRAVY

- 25 mikrotitračných doštičiek a suspenzných médií
- 25 inkubačných sáčkov
- pracovný návod
- 13 výsledkových formulárov

POTREBNÉ, ALE NEDODÁVANÉ ČINIDLÁ A MATERIÁL

Činidlá :

- Sterilný nepufrovaný fyziologický roztok

Materiál:

- Pipety, tampóny, kľučky, kahan, skúmavky a ďalšie základné vybavenie mikrobiologického laboratória

VAROVANIE A BEZPEČNOSTNÉ OPATRENIA

- **Len pre diagnostické použitie *in vitro*.**
- **Len pre profesionálne použitie.**
- Dodržujte presne pracovný návod!
- Všetky vzorky a inokulované produkty považujte za potenciálne infekčné a pri manipulácii s nimi je potrebné rešpektovať obvyklé bezpečnostné opatrenia podľa platných predpisov.
- Nepoužívajte produkt po dátume expirácie.
- Pred použitím skontrolujte, či je obal nepoškodený.
- Poškodené súpravy nepoužívajte.

PODMIENKY SKLADOVANIA

Súpravy uchovávajúte pri teplote +2 až +25°C.
Expirácia je uvedená na každom balení.

VZORKY

Testované mikroorganizmy izolujte z vhodného neselektívneho kultivačného média podľa štandardných mikrobiologických postupov.

PRACOVNÝ POSTUP

Príprava inokula

- Bakteriologickou kľučkou alebo tampónom zotrite z čistej a dobre narastenej 18-24 hod. kultúry kultivovanej na vhodnom neselektívnom agarovom médiu niekoľko dobre izolovaných kolónií a vnesť do skúmavky vytemperovaného sterilného a nepufrovaného fyziologického roztoku.
- Poriadne homogénizujte. Zákal suspenzie musí zodpovedať hodnote 0,5 McF.
- Vložte 20 µl pripravenej kvasinkovej suspenzie do suspenzného média a po dôslednej homogenizácii okamžite použite.
- V prípade použitia inokulátora vlejte pripravenú kvasinkovú suspenziu do sterilného viečka Petriho misky alebo inej vhodnej sterilnej nádoby.

PRÍPRAVA MIKROTRITRAČNEJ DOŠTIČKY

- Otvorte obal mikrotitračnej doštičky a zaznamenajte na ňu číslo vyšetrovanej vzorky.
- Mikrotitračnú doštičku použite okamžite po otvorení hliníkového sáčku.

INOKULÁCIA

Inokulácia pipetou – vnesť 100 µl kvasinkovej suspenzie v suspenznom médiu do každej jamky mikrotitračnej doštičky.

INKUBÁCIA

Nainokulovanú doštičku vložte do inkubačného sáčku. Okraj vrečka zahnite na spodok mikrotitračnej doštičky. Zabráňte tým vysychaniu inokula. Inkubujte pri teplote 35±2°C po dobu 20±4 hodín (podľa EUCAST). V prípade nedostatočného nárastu (jamka K nevykazuje pozitívnu reakciu), predĺžte inkubáciu do druhého dňa. Niektoré pomaly rastúce mikroorganizmy (*C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *Cryptococcus sp.* a pod.) môžu vykazovať občasný nárast až po ďalších 12-24 hodinách inkubácie v závislosti od použitej agarovej pôdy, od predchádzajúceho množenia v bujóne a pod. Nárast je možné urýchliť použitím suspenzného média obohateného boviným sérom, čo je ale v rozpore s metódou EUCAST.

HODNOTENIE A INTERPRETÁCIA

Vyberte doštičku z inkubačného vrečka a overte nárast v kontrolnej jamke (K). V prípade, že nepozorujete rast indikovaný ružovým zafarbením v jamke K, test opakujte.

Vyhodnoťte vizuálnu zmenu zafarbenia. Pôvodná modrá farba prechádza vplyvom nárastu kvasiniek v jednotlivých jamkách na ružovú farbu (tabuľka nižšie).

Ako hodnotu MIC odčítajte prvú jamku, ktorá je farebne odlišná oproti jamke K a tvorí prechod z ružovej do modrej / fialovej farby.

AMB – MIC hodnotu odčítajte len ako 90 % inhibíciu, teda farbu zodpovedajúcu AMB 8. Ostatné antimykotiká – odčítajte ako MIC hodnotu zodpovedajúcu aspoň 50% inhibíciu oproti pozitívnej kontrole.

KONTROLA KVALITY

Kontrolné kmene sú uvedené na str. 3.

LIKVIDÁCIA ODPADU

S materiálom zo súprav zachádzajte vždy s ako potenciálne infekčným odpadom. Odpad likvidujte podľa interných operačných postupov a smerníc v súlade s legislatívou vašej krajiny. Komponenty súpravy neobsahujú nebezpečné látky.

KONTROLA KVALITY

Kontrolné kmene sú uvedené na str. 3.

HODNOTENIE NÁRASTU MIKROORGANIZMU

Hodnotenie nárastu mikroorganizmu je uvedené na str. 3.

Rozloženie antimykotík a číselné vyjadrenie hodnôt MIC (v mg/l)

Rozloženie antimykotík a číselné vyjadrenie hodnôt MIC (v mg/l) sú uvedené na str. 3.

EN

SUMMARY AND EXPLANATION

The kit is designed to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) of yeast. The MIC value corresponds to the lowest concentration of the antimicrobial agents, which leads to a visible reduction in the growth of the microorganism.

PRINCIPLE

The kits contain 96 well microplates containing descending gradient of dehydrated antimicrobial substrates forming a downward concentration gradient and other excipients needed to determine MIC values. Rehydration takes place in a suspension medium from a yeast suspension. The sample is visualized after incubation.

THE KIT CONTAINS

- 25 microplates and suspension media
- 25 PE bags
- working manual
- 13 result forms

REQUIRED BUT NOT SUPPLIED REAGENTS AND MATERIAL**Reagents :**

- Sterile unbuffered saline

Material:

- Pipettes, tampons, inoculation loops, burner, tubes and other basic laboratory equipment.

WARNINGS AND SAFETY PRECAUTIONS

- For *in vitro* diagnostics use only.
- For professional use only.
- Follow the instructions exactly.
- All samples and products should be considered as potentially infectious and this must be respected when handling.
- Observe common safety measures according to the regulations of your country.
- Before use, check if the packing is intact.
- Do not use damaged kit.

STORAGE CONDITIONS

Store kits at temperature from +2 to +25°C.

Expiration is placed on each packaging.

SAMPLES

Isolate microorganisms from suitable cultivation medium according to standard microbiological techniques.

RECCOMENDED PROCEDURE**Preparation of inoculum**

- Take some well isolated colonies by inoculation loop from pure 18-24 hours old culture cultivated on suitable non selective cultivation and put it into the tube with room temperature sterile saline.
- Prepare well homogenized suspension of turbidity of 0,5 McF.
- Inoculate 20 µl of freshly prepared yeast suspension into suspension media . Homogenise properly and use suspension immediately after preparation.
- If you use inoculator – please pour the yeast suspension into sterile lid of Petri dish.

PREPARATION OF MICROTITRATION PLATE

- Open aluminium sachet and mark microplate with number of examined culture
- Use microplate immediatly after opening the aluminium sachet.

INOCULATION

Inocuation by pippete – inoculate 100 µl of yeast suspension into each well of microplate.

INCUBATION

Put the microtitration plate to packed PE sachet. Bend the end of the bag under microtitration plate – to avoid drying of suspension. Incubate at temperature 35±2°C for 20±4 hours (according to EUCAST). In case of insufficient growth (well K does not show a positive reaction), prolong the incubation until the next day. Some slow-growing microorganisms (*C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *Cryptococcus sp.*, etc.) may show occasional growth after additional 12-24 hours of incubation, depending on the agar medium used, previous growth in the broth, etc. It is possible to increase the growth by the use of suspension medium enriched with bovine serum, which is not in accordance to the EUCAST methodology.

EVALUATION AND INTERPRETATION

Remove microtitration plate from PE incubation sachet and check microbial growth in control microwell (K). Repeat the test in case, if you do not see growth which indicates pink coloration. Evaluate the visual color change. The original blue color becomes pink due to the growth of yeast in each well (table below).

For the MIC value, subtract the first well, which is different in color from well K, forming a transition from pink to blue / violet!

AMB – read only **90 % inhibited microwells** as MIC value corresponding to AMB 8. Other antifungals– read min. **50% of inhibition** as MIC value in comparison with control microwell (K).

WASTE LIQUIDATION

Work with material as with potentially infectious agents. Liquidate leavings according to internal procedures and legislative of your country. The kit doesn't contain dangerous components.

QUALITY CONTROL

Control strains are on the page 3.

EVALUATION OF GROWTH

For evaluation of growth see the page 3.

Antimycotic dilution layout and MIC values (mg/l)

For antimycotic dilution layout and MIC values (mg/l) see the page 3.

CZ**ÚČEL URČENÍ A POPIS**

Souprava je určena k stanovení minimální inhibiční koncentrace (MIC) kvasinek. Hodnota MIC odpovídá nejnižší koncentraci antimikrobiální látky, která vede k viditelnému omezení růstu mikroorganismu.

PRINCIP

Souprava sa skladá z mikrotitrační destičky v 96 jamkovém formátu obsahující dehydratované antimikrobiální látky tvořící sestupný koncentrační gradient a další pomocné látky potřebné pro stanovení hodnot MIC. Rehydratace probíhá v suspenzním médiu se suspenzí kvasinek. Vzorek je po inkubaci vyhodnocen vizuálně.

OBSAH SOUPRAVY

- 25 mikrotitračních destiček a suspenzních médií
- 25 inkubačních sáčků
- pracovní návod
- 13 výsledkových formulářů

POTŘEBNÁ, ALE NEDODÁVANÁ ČINIDLA A MATERIÁL**Činidla :**

- Sterilní nepufrovaný fyziologický roztok

Materiál:

- Pipety, tampony, kličky, kahan, zkumavky a další základní vybavení mikrobiologické laboratoře

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

- Jen pro diagnostické použití *in vitro*.
- Jen pro profesionální použití.
- Dodržujte přesně pracovní návod!
- Všechny vzorky a inokulované produkty považujte za potencionálně infekční a při manipulaci s nimi je třeba respektovat obvyklé bezpečnostní opatření dle platných předpisů.
- Nepoužívejte produkt po datu expirace.
- Před použitím zkontrolujte, zda je obal nepoškozen.
- Poškozené soupravy nepoužívejte.

PODMÍNKY SKLADOVÁNÍ

Soupravy uchovávejte při teplotě +2 až +25°C.

Expirace je uvedena na každém balení.

VZORKY

Testované mikroorganismy izolujte z vhodného neselektivního kultivačního média podle standardních mikrobiologických postupů.

PRACOVNÍ POSTUP**Příprava inokula**

• Bakteriologickou kličkou nebo tamponem setřete z čisté a dobře narostlé 18-24 hod. kultury inkubované na vhodném neselektivním agarovém médiu několik dobře izolovaných kolonií a vnesťe do zkumavky vytemperovaného sterilního a nepufrovaného fyziologického roztoku.

- Řádně homogenizujte. Zákal suspenze musí odpovídat hodnotě 0,5 McF.
- Vnesťe 20 µl připravené kvasinkové suspenze do suspenzního média a po důsledné homogenizaci okamžitě použijte.
- V případě použití inokulátoru vlijte připravenou kvasinkovou suspenzi do sterilního víčka Petriho misky nebo jiné vhodné sterilní nádoby.

PŘÍPRAVA MIKROTITRAČNÍ DESTIČKY

- Otevřete obal mikrotitrační destičky a zaznamenejte na ni číslo vyšetřovaného vzorku.
- Mikrotitrační destičku použijte okamžitě po otevření hliníkového sáčku.

INOKULACE

Inokulace pipetou – vnesťe 100 μ l kvasinkové suspenzie v suspenzním médiu do každej jamky mikrotitrační destičky.

INKUBACE

Nainokulovanou destičku vložte do inkubačního sáčku. Okraj sáčku zahňte pod dno mikrotitrační pdestičky. Zabráňte tím vysychání inokula. Inkubujte při teplotě 35±2°C po dobu 20±4 hodin (dle EUCAST). **V případě nedostatečného nárůstu** (jamka K nevykazuje pozitivní reakci), **prodlužte inkubaci do druhého dne.** Některé pomalu rostoucí mikroorganismy (*C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *Cryptococcus sp.* apod.) mohou vykazovat občasný nárůst až po dodatečných 12-24 hodinách inkubace v závislosti na použité agarové půdě, předchozím pomnožení v bujónu apod. Nárůst lze urychlit použitím suspenzního média obohaceného boviním sérem, což je ale v rozporu s metodikou EUCAST.

HODNOCENÍ A INTERPRETACE

Vyjměte destičku z inkubačního sáčku a ověřte nárůst v kontrolní jamce (K). V případě, že nepozorujete růst indikovaný růžovým zbarvením v jamce K, test opakujte.

Vyhodnoťte vizuální změnu zbarvení. Původní modrá barva přechází vlivem nárůstu kvasinek v jednotlivých jamkách v růžovou barvu (tabulka níže).

Jako hodnotu MIC odečítejte první jamku, která je barevně odlišná oproti jamce K a tvoří přechod z růžové do modré / fialové barvy !

AMB – MIC hodnotu odečítejte jen jako **90 % inhibici**, tedy barvu odpovídající AMB 8. Ostatní antimykotika – odečet alespoň **50 % inhibice** oproti pozitivní kontrole.

KONTROLA KVALITY / QUALITY CONTROL

Kontrolní kmeny jsou uvedeny na str. 2.

LIKVIDACE ODPADU

S materiálem ze souprav zacházejte vždy s jako s potenciálně infekčním odpadem. Odpad likvidujte podle interních operačních postupů a směrnic v souladu s legislativou vaší krajiny. Komponenty soupravy neobsahují nebezpečné látky.

HODNOTENIE NÁRÁSTU MIKROORGANIZMOV / EVALUATION OF GROWTH/HODNOCENÍ NÁRŮSTU MIKROORGANIZMU

rastie (pozitívny) / growth (positive) / roste (pozitívny)	ružová / pink / růžová
nerastie (negatívny) / no growth (negative) / neroste (negatívny)	modrá až fialová / blue or purple / modrá až fialová

Skratky ATM použitých v súprave / ATM shortcuts used in kit

AND	MIF	CAS	POS	VOR	ITR	FLU	AMB
Anidulafungin	Micafungin	Caspofungin	Posaconazole	Voriconazole	Itraconazole	Fluconazole	Amphotericin B

Rozložení antimykotik a číselné vyjádření hodnot MIC (v mg/l) / Antimycotic dilution layout and MIC values (mg/l)

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	AND	0,004	0,008	0,016	0,032	0,064	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8
B	MIF	0,004	0,008	0,016	0,032	0,064	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8
C	CAS	0,004	0,008	0,016	0,032	0,064	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8
D	POS	0,004	0,008	0,016	0,032	0,064	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8
E	VOR	0,004	0,008	0,016	0,032	0,064	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8
F	ITR	0,004	0,008	0,016	0,032	0,064	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8
G	FLU	0,064	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128
H	AMB	K	0,008	0,016	0,032	0,064	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8

Číselné vyjadrenie hodnôt MIC pro / MIC values for / Číselné vyjádření hodnot MIC pro :

Vysvětlivky : K = kontrola růstu / positive control microwell

Interpretace výsledků podle EUCAST – Expert Rules in Antibacterial Susceptibility Testing (www.eucast.org).

Při hodnocení výsledku testu je potřeba zohlednit přirozené rezistence podle výsledku rodové / druhové identifikace mikroorganismu

KONTROLNÉ KMENE / CONTROL STRAINS / KONTROLNÍ KMENY

C(mg/l)	AND	MIF	CAS	POS	VOR	ITR	FLU	AMB
<i>Candida krusei</i> CCM 8271/ ATCC 6258	0,015-0,06	0,03-0,125	0,125-1	0,015-0,06	0,03-0,25	0,03-0,125	16-64	0,125-1

ATCC : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

CNCTC: The Czech National Collection of Type Cultures, SZU Praha, Šrobárova 48, 100 42, Praha 10, tel. +420267081111, e-mail:cnctc@szu.cz

CCM: Česká sbírka mikroorganismů, Masarykova univerzita Brno, Kamenice 5, 625 00 Brno, tel. +420549491430, e-mail: ccm@sci.muni.cz

Dátum poslednej revízie / Last revision date / Datum poslední revize : 25.3.2024

REF	Ca. No /katalogové číslo	LOT	Lot / šarže / šarža		Manufacturing date / datum výroby		Producer / výrobce / výrobca
	Expiration /expirace / expirácia	UDI-DI	Unique ID / Unikátní kod		Storage temperature / teplota skladování / skladovania		No. of test / počet testu / počet testov
	Instruction for use / pracovní návod / pracovný návod		For single use only / jednorázové použití		Non sterile product / nesterilní produkt / nesterilny produkt		
	Plain carton / hladká lepenka	IVD	In vitro diagnostics / In vitro diagnostika	CE	REGULATION (EU) 2017/746 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 5 April 2017 on in vitro diagnostic medical devices and repealing Directive 98/79 / EC and Commission Decision 2010/227 / EU		



DIAGNOSTICS s.r.o.,
Hodská 68, Galanta, 924 01, Slovakia / Slovensko / Slovenská Republika
www.diagnostics.sk, e-mail: info@diagnostics.sk