

# ENTEROCOCCOSEL AGAR

## INSTRUKCJA UŻYCIA GOTOWEGO PODŁOŻA NA PŁYTCE

### 1. Przeznaczenie

Enterococcosel Agar jest podłożem selektywnym używanym do jakościowego wykrywania i różnicowania paciorkowców grupy D w próbkach materiałów klinicznych pochodzących od człowieka oraz innych próbkach. Wykorzystywane jest w diagnozowaniu zakażeń podejrzanych o etiologię enterokokową oraz w badaniach mających na celu izolację enterokoków z badanego materiału. W podłożu wykorzystano zdolność do wzrostu enterokoków w obecności 6,5% chlorku sodu oraz soli żółci.

Rodzaj *Enterococcus* obejmuje patogeny oportunistyczne, które mogą powodować infekcje poza swoim fizjologicznym miejscem bytowania, szczególnie u osób z upośledzonym układem odpornościowym. Mogą być przyczyną zakażeń dróg moczowych, ran, bakteriemii, zapalenia wsierdza. Są często izolowane od pacjentów z wielodrobnoustrojowymi infekcjami wewnątrzbrzusznymi. Najczęściej izoluje się dwa gatunki: *Enterococcus faecalis* i *Enterococcus faecium* rzadziej *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus casseliflavus*, *Enterococcus durans*, *Enterococcus raffinosus* i *Enterococcus hirae*. *Enterococcus faecalis* częściej wywołuje schorzenia w obrębie jamy brzusznej a *Enterococcus faecium* dróg moczowych i zakażenia ran.

Nr kat.:	Rodzaj podłoża:	Opakowanie:
1070PD90	podłoże stałe na płytce, gotowe do użycia	1x10 szt (90 mm)

### 2. Zasada działania

Enzymatyczny hydrolizat kazeinowy oraz peptony stanowią źródło składników odżywczych w podłożu. Żółć hamuje wzrost bakterii Gram- dodatnich innych niż paciorkowce z grupy D. Azydek sodu hamuje natomiast wzrost bakterii Gram-ujemnych. Obecność eskuliny pozwala na różnicowanie paciorkowców z grupy D, które posiadają zdolność do jej hydrolizy. Eskulina hydrolizowana jest do eskuletyny i glukozy. Eskuletyna wchodzi w reakcję solami żelaza znajdującymi się w cytrynianie manonowo-żelazowym, tworząc brązowy lub czarny kompleks.

### 3. Skład podłoża

w g/l wody destylowanej:	
Enzymatyczny hydrolizat kazeinowy	25,0 g
Pepton mięsny wzbogacony ekstraktem drożdżowym	9,5 g
Żółć	1,0 g
Chlorek sodu	5,0 g
Cytrynian sodu	1,0 g
Cytrynian amonowo-żelazowy	0,5 g
Azydek sodu	0,25 g
Eskulina	1,0 g
Agar	14,0 g

pH 7,1 ± 0,2 w temperaturze 25°C.

Wygląd podłoża - Podłoże klarowne, szarosłomkowe

### 4. Przygotowanie pożywki

Pożywka jest gotowa do użycia. Bezpośrednio przed użyciem pożywkę należy doprowadzić do temperatury pokojowej.

### 5. Wyposażenie wymagane, nie dostarczone

Sprzęt ogólnolaboratoryjny niezbędny do wykonania badań, w tym cieplarka laboratoryjna.

### 6. Środki ostrożności

- Produkt przeznaczony wyłącznie do użytku profesjonalnego.
- Produkt nieautomatyzowany.
- Podłoże zawiera składniki pochodzenia zwierzęcego, co może wiązać się z obecnością biologicznych czynników

chorobotwórczych, dlatego z podłożem należy postępować zgodnie z zasadami pracy z materiałem biologicznym potencjalnie zakaźnym.

- Nie należy używać płytek, jeżeli na podłożu są widoczne oznaki skażenia mikrobiologicznego, odbarwienia, wyschnięcia, pęknięcia lub inne oznaki pogorszenia jakości.
- Nie używać płytek uszkodzonych.
- Nie używać płytek po terminie ważności.
- Nie dopuszcza się ponownej inkubacji wcześniej posianych płytek.
- W celu zapewnienia poprawnych wyników, należy postępować zgodnie z niniejszą instrukcją.
- W przypadku , gdy postępowanie z pożywką podczas wykonywania będzie odbiegało od opisanego w niniejszej instrukcji, laboratorium jest zobowiązane do przeprowadzenia walidacji przyjętego postępowania.

## 7. Przechowywanie

Płytki z podłożem należy przechowywać w temperaturze 2–12°C do upływu terminu ważności. Podłoża przechowywać w oryginalnym opakowaniu, w pozycji odwróconej, z dala od bezpośredniego źródła światła. Aby uniknąć zamrożenia agaru, nie należy przechowywać płytek blisko ścian lodówki. Aby uniknąć pojawienia się większej ilości wody skroplonej na wieczku płytki nie należy otwierać zbyt często lodówki i nie przechowywać podłoży w przepelnionej lodówce.

## 8. Termin ważności

Podłoże przechowywane w temperaturze 2–12°C zachowuje swoje właściwości do 3 miesięcy od daty produkcji.

## 9. Materiał do badań

Próbki materiałów klinicznych pochodzące od człowieka.

Próbki do badań pobrać zgodnie z aktualnymi wytycznymi. Próbki do badań do czasu dostarczenia do laboratorium przechowywać zgodnie z zasadami przechowywania próbek obowiązującymi w laboratorium. Próbki moczu i kału należy przechowywać w lodówce w temperaturze 4°C ( $\pm 2$  °C), wymazy, aspiraty, próbki pochodzące z dróg oddechowych i inne pobrane na podłoża transportowe należy przechowywać w temperaturze pokojowej zgodnie z zaleceniami producenta. Wykonać posiew próbki możliwie jak najszybciej po dostarczeniu materiału do laboratorium.

## 10. Sposób wykonania

1. Przed użyciem podłoże należy doprowadzić do temperatury pokojowej.
2. Posiać próbkę rozprowadzając ją na powierzchni agaru.
3. Jeżeli próbka została pobrana na wymazówkę - końcówkę wymazówki delikatnie obracać na niewielkim obszarze agaru tuż przy brzegach płytki, a następnie wykonać posiew redukcyjny przy użyciu jałowej ezy.
4. Posiane płytki inkubować w warunkach tlenowych, w temperaturze  $35 \pm 2$  °C.
5. Wynik wzrostu odczytać po 18-24 godzinach inkubacji.

## 11. Odczyt i interpretacja wyników wzrostu

Po zakończeniu inkubacji obserwować:

- obecność wzrostu kolonii bakteryjnych,
- morfologię kolonii,
- barwę pożywki.

Typowa morfologia kolonii wyhodowanych na podłożu Enterococcosel Agar:

Mikroorganizm	Typowa morfologia kolonii/ kolor podłoża
<i>Streptococcus pyogenes</i> (grupa A)	Brak wzrostu lub bardzo słaby wzrost, brak zaciemnienia podłoża wokół kolonii
<i>Streptococcus agalactiae</i> (grupa B)	Brak wzrostu lub bardzo słaby wzrost, brak zaciemnienia podłoża wokół kolonii
Pozostałe paciorkowce (nienależące do grupy D)	Brak wzrostu lub bardzo słaby wzrost
Paciorkowce jelitowe	Kolonie małe, przejrzyste, zaciemnienie podłoża wokół kolonii
Gronkowce	Kolonie, duże białe matowe
Bakterie Gram-ujemne	Brak wzrostu lub bardzo słaby wzrost

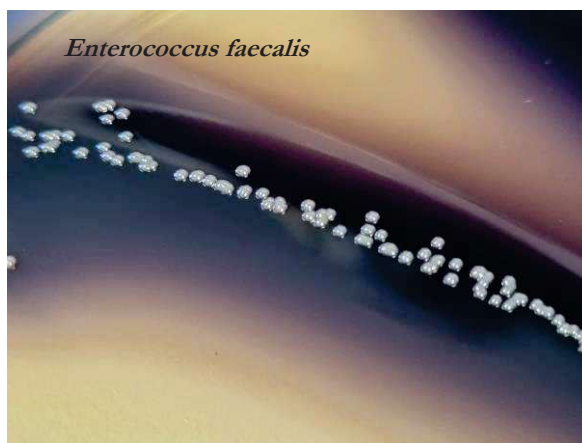
W celu ostatecznej identyfikacji wyhodowanych drobnoustrojów, należy przeprowadzić dodatkowe badania i / lub testy potwierdzające przy użyciu innych metod wykorzystywanych w laboratorium.

## 12. Kontrola jakości

Właściwości odżywcze i selektywność podłoża należy kontrolować z użyciem szczepów odniesienia dających oczekiwane reakcje dodatnie i ujemne. Badanie należy wykonywać używając czystych, świeżych hodowli szczepów odniesienia dających pożądane reakcje. Do przeprowadzenia kontroli jakości podłoża, należy użyć następujących szczepów odniesienia:

Szczep odniesienia:	Intensywność wzrostu:	Morfologia kolonii:
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	dobry wzrost	kolonie małe, przejrzyste, zaczernienie podłoża wokół kolonii
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	brak wzrostu	-

Właściwości odżywcze podłoża należy kontrolować z użyciem szczepów odniesienia dających oczekiwane reakcje dodatnie. Badanie należy wykonywać używając czystych, świeżych hodowli szczepów odniesienia dających pożądane reakcje. Do przeprowadzenia kontroli jakości podłoża, należy użyć następujących szczepów odniesienia:



Morfologia kolonii i sposób wzrostu bakterii *Enterococcus faecalis* na podłożu Enterococcosel Agar

## 13. Ograniczenia metody

- Z powodu zmienności wartości odżywczych podłoża, niektóre szczepy mogą rosnąć słabo, albo nie rosnąć wcale na podłożu Enterococcosel Agar.
- Należy wykonać posiew próbki na inne podłoże nieselektywne p. Columbia Agar z 5% krwi baraniej, w celu izolacji innych drobnoustrojów obecnych w próbce.
- Podłoże to nie hamuje wzrostu innych eskulinododatnich mikroorganizmów innych niż paciorkowce kałowe. Dlatego zalecane jest wykonanie dodatkowych testów.

## 14. Charakterystyka metody

Enterokoki, to grupa drobnoustrojów odpowiedzialnych za zakażenia oportunistyczne. W porównaniu z innymi drobnoustrojami nie dysponują szerokim arsenalem czynników zjadliwości, a za ich potencjał chorobotwórczy często odpowiada naturalna oporność na wiele grup antybiotyków. Często pojawiają się w szpitalach, w których nadmiernie stosuje się niektóre grupy antybiotyków, szczególnie cefalosporyny, na które enterokoki są naturalnie odporne.

Historycznie drobnoustroje te klasyfikowane były do grupy paciorkowców i należały do grupy D paciorkowców według klasyfikacji Lancefield.

Wiele laboratoriów stosujących klasyczne metody identyfikacji boryka się z problemem różnicowania enterokoków od innych paciorkowców. Jedną z cech różnicujących te drobnoustroje jest wzrost w obecności soli żółci oraz rozkład eskuliny. Na tej bazie powstało na rynku diagnostycznym wiele podłoży do izolacji i identyfikacji tych drobnoustrojów.

Facklam R.R. i Moody M.D zbadali sześć powszechnie stosowanych testów diagnostycznych w izolacji i identyfikacji paciorkowców grupy D od innych paciorkowców. Przebadano 282 izolaty grupy D paciorkowców i 366 innych grup. Test z wykorzystaniem wzrostu w obecności soli żółci i rozkład eskuliny pozwolił na wykrycie 100% paciorkowców grupy D i tylko 2% innych paciorkowców.

Ten sam autor zbadal siedem różnych podłoży do izolacji paciorkowców grupy D, w tym cztery podłoża stałe i trzy płynne. Stwierdzono, że podłoża zawierające w swoim składzie żółć i eskulinę najlepiej nadawały się do izolacji tej grupy drobnoustrojów.

Sabbaj J. i wsp. porównali trzy selektywne podłoża do izolacji paciorkowców grupy D, w tym podłoże z eskuliną, solami żółci i azydkiem sodu. We wszystkich przypadkach na podłożu z eskuliną, żółcią i azydkiem sodu uzyskano wzrost paciorkowców grupy D, podczas gdy pozostałe podłoża dały niepowodzenie w 8% przypadków.

## 15. Postępowanie ze zużytymi podłożami

Podłoża po badaniach oraz niezuczyte podłoża należy utylizować zgodnie z aktualnie obowiązującymi przepisami dotyczącymi postępowania z odpadami medycznymi oraz procedurami laboratorium odnośnie utylizacji materiałów zakaźnych i potencjalnie zakaźnych.

## 16. Zgłaszanie zdarzeń niepożądanych

Zgodnie z obowiązującymi przepisami, zdarzenia niepożądane i incydenty, które można bezpośrednio powiązać z opisywanym podłożem, należy zgłaszać producentowi oraz Prezesowi Urzędu Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych na adres:

Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych

Al. Jerozolimskie 181C, 02-222 Warszawa;

Telefon: 48 22 492-11-00

Fax: 48 22 492-11-09

## 17. Piśmiennictwo



1. Facklam, R. R., and M. D. Moody. 1970. Presumptive identification of group D streptococci: the bileesculin test. Appl. Microbiol. 20:245.
2. Rochaix, A. 1924. Milieux a leculine pour le diagnostid differentielles bacteries du grojps streptoentero-pneumocoque. Comt. Rend. Soc. Biol. 90:771-772.
3. Meyer, K., and H. Schönfeld. 1926. Über die Unterscheidung des Enterococcus vom Streptococcus viridans und die Beziehung beider zum Strptococcus lactis. Zentralb. Bakteriol Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt. I orig. 99:402-416.
4. Schleifer, K. H., and R. Kilpper-Balz. 1987. Molecular and chemotaxonomic approaches to the classification of streptococci, enterococci and lactococci: a review. Syst. Appl. Microbiol. 10:1-19.
5. Vanderzant, C., and D. F. Splittstoesser (eds.). Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4 th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
6. [www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalytical manualBAM/default.htm](http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalytical%20manualBAM/default.htm).
7. Marshall, R. T. (ed.). 2004. Standard methods for the examination of dairy products, 17th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
8. Facklam R.R. Comparison of several laboratory media for presumptive identification of enterococci and group D streptococci, Appl. Microbiol., Aug 1973, 138-45
9. Sabbaj J., Sutter V.L., Finegold S.M. Comparison of selective media for isolation of presumptive group D streptococci from human feces, Appl. Microbiol., Dec 1971, 1008-11










### Historia zmian dokumentu

Data zmiany	Sekcja	Opis zmiany
2022/12/01	Cały dokument	Dostosowanie do wymagań Rozporządzenia UE 2017/746

### UWAGA

Historia zmian dokumentu nie uwzględnia zmian redakcyjnych.

SYMBOL	NAZWA SYMBOLU	OPIS	NR REF.
	Wytwórca	Oznacza wytwórcę wyrobu medycznego zgodnie z definicją zawartą w dyrektywach unijnych 90/385/EWG, 93/42/EWG oraz 98/79/WE.	5.1.1
	Data produkcji	Oznacza datę produkcji wyrobu medycznego.	5.1.3
<b>REF</b>	Numer katalogowy	Oznacza numer produktu w katalogu producenta pozwalający zidentyfikować wyrób medyczny.	5.1.6
<b>LOT</b>	Numer serii / kod partii	Oznacza nadany przez producenta numer partii pozwalający zidentyfikować partię produktów, do której należy wyrób medyczny.	5.1.5

	Wyrób do diagnostyki in vitro	Oznacza wyrób medyczny przeznaczony do diagnostyki in vitro	5.5.1
	Nie używać powtórnie	Oznacza wyrób medyczny przeznaczony do jednokrotnego użytku lub do użytku podczas leczenia jednego pacjenta w ramach jednej procedury medycznej.	5.4.2
	Wystarczy na wykonanie <n> testów	Oznacza nadaną przez producenta wartość na ile testów wystarczy wyrób.	5.5.5
	Data przydatności do użycia	Oznacza datę, po której wyrób medyczny nie powinien być używany.	5.1.4
	Przestrzegać zakresu temperatury	Wskazuje maksymalną i minimalną wartość temperatury, w której należy przechowywać, transportować lub użytkować przedmiot.	5.3.7
	Symbol bezpieczeństwa (Zgodność z wymogami UE)	Oznaczenie CE na produkcie stanowi deklarację producenta potwierdzającą zgodność produktu z zasadniczymi wymogami odpowiednich przepisów Unii Europejskiej dotyczących zdrowia, bezpieczeństwa i ochrony środowiska.	nd.
	Sprawdź w instrukcji użycia	Oznacza konieczność zapoznania się z instrukcją użytkowania	5.4.3
	Sterylizowany aseptycznymi technikami przetwarzania	Wskazuje wyrób medyczny, który został wytworzony za pomocą zaakceptowanych technik aseptycznych.	5.2.2
	Nie używać w przypadku uszkodzonego opakowania	Oznacza wyrób medyczny, który nie powinien być używany, jeśli opakowanie zostało uszkodzone lub otwarte.	5.2.8
	Zawiera materiał biologiczny pochodzenia zwierzęcego	Oznacza wyrób medyczny zawierający materiał biologiczny tj. tkanki, komórki lub ich pochodne pochodzenia zwierzęcego.	5.4.8

