


Kat.číslo: MKM 05012	Vaječná pôda – Ogawa In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka Len na profesionálne použitie	
---------------------------------------	--	--

Návod na použitie

Účel určenia: Kultivačné médium určené na izoláciu a kultiváciu mykobaktérií z klinických vzoriek.

Vaječná pôda Ogawa je kvalitatívna in vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka, určená na pomoc pri diagnostike infekčných ochorení. Len na profesionálne použitie.

Skupina: Médium kultivačné – izolácia mykobaktérií

Princíp: Ide o základnú pevnú pôdu na kultiváciu mykobaktérií. Vaječná pôda Ogawa je čiastočne selektívna, pretože obsahuje prídavok malachitovej zelene, ktorá nešpecificky potlačuje citlivé kmene. Na selektívny záchyt mykobaktérií je využívaná relatívna odolnosť týchto mikroorganizmov voči pôsobeniu kyselín a zásad. Ich acidorezistencia sa preukáže morením vzorky v roztoku kyseliny či zásady pred samotným naočkovaním.

Tuberkulóza (Tbc) je celkové infekčné ochorenie, vyvolané pre človeka obligátne patogénnymi mykobaktériami skupiny *Mycobacterium tuberculosis* komplex, kam patrí *M. tuberculosis*, *M. bovis BCG*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. canetti* a *M. pinnipedii*. V súčasnosti sa v našich podmienkach reálne vyskytuje prakticky len ochorenie, vyvolané samotným *M. tuberculosis*. Hlavným postihnutým orgánom sú pľúca, ale tbc môže postihnúť ktorýkoľvek orgán. Za jednoznačný dôkaz ochorenia (definitívny prípad) je považovaná kultivácia mykobaktérií.

Ochorenia, vyvolané inými, tzv. atypickými mykobaktériami (*Mycobacterium avium* komplex, *M. xenopi*, *M. kansasii*, *M. fortuitum*, *M. chelonae* a iné), sa nazývajú mykobakteriázy. Pôvodca ochorenia z tejto skupiny, na rozdiel od tbc, môže byť prítomný aj v životnom prostredí (voda, pôda apod.), pre človeka býva podmienené patogénny a výskyt mykobakteriáz je vyšší u osôb s poruchami imunity.

Na kultivačné vyšetrenie sa požívajú selektívne pôdy (2 typy tuhých a 1 typ tekutej). Pôdy sa odčítajú v 3., 6. a 9. kultivačnom týždni. Mykobaktérie rastú v charakteristických „karfiolovitých“ kolóniách alebo vo forme sedimentu alebo blanky v tekutých pôdach.

Pri klasickej kultivácii sa po 3. kultivačnom týždni vyradia kontaminované vzorky a po 6. týždňoch kultivácie sa uzatvorí predbežný výsledok. Kultivácia je definitívne ukončená až po 9-tich týždňoch kultivácie. Z pozitívnej kultivácie sa vyhotoví mikroskopický preparát a v prípade nálezu acidorezistentných paličiek následne prebieha identifikácia na základe skriningových a ďalších biochemických testov príp. analýzy DNA a stanovenie citlivosti na antituberkulotiká.

Očakávané výsledky:

M. tuberculosis, *M. smegmatis*- zrnité, drsné, suché kolónienazhltlej farby

Zloženie

(v gramoch na 600 ml deionizovanej vody):


Dihydrogénfosforečnan draselný	6
Glutamát sodný	6
Pyrohroznan sodný	1,2
Glycerín	36
Malachitová zeleň	0,36
Vajíčka	1200 ml

pH: neuvedené

Farba: Svetlozelená

Poskytovaný materiál: Vaječná pôda – Ogawa– ready-to-use-medium, plnené v šikmej polohe, vyhotovenie a počet kusov v závislosti od katalógového čísla (Pozrite Dostupné vyhotovenia).

Požadovaný, ale neposkytovaný materiál: Sterilné kľučky, pomocné kultivačné média a činidlá na úplnú identifikáciu kolónií, organizmy pre kontrolu kvality a ďalšie laboratórne vybavenie podľa potreby

Kat.číslo: MKM 05012	Vaječná pôda – Ogawa In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka Len na profesionálne použitie	
---------------------------------------	--	--

Typy vzoriek: Spútum, indukované spútum, bronchoalveolárnalaváž (BAL), tracheálne a bronchiálne aspirátylikvor, pleurálny výpotok, perikardiálny aspirát, punktát, laryngeálny výter, žalúdočný výplach, moč, výtery a stery z hnisavých procesov a rán, menštruačná krv, stolica, pitevný a sekný materiál, odpadová voda

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

Kontaminované vzorky vyžadujú pred kultiváciou krok dekontaminácie, aby sa znížila pravdepodobnosť premnoženia organizmami inými ako mykobaktérie. Vzorky z normálne sterilných miest by sa mali koncentrovať centrifugáciou.

Pracovný postup: 1. Skúmavky Vaječnej pôdy Ogawa nechajte pred použitím vytemperovať na izbovú teplotu.

2. Upravte vzorku – dekontaminujte v prípade jej kontaminácie.

2. Naočkujte povrch šikmej plochy 0,2 ml (3-5 kvapiek) dekontaminovanej a/alebo koncentrovanej vzorky. Po naočkovaní udržiavajte skúmavky chránené pred svetlom a uložte ich do vhodného systému poskytujúceho aerobnú atmosféru s dostatočnou vlhkosťou. Naočkované šikmé pôdy inkubujte pri teplote 37 ± 2 °C počas 6-9 týždňov, v prípade potreby predĺžte na 12 týždňov.

3. Šikmé média je nutné inkubovať v horizontálnej polohe, dokým nedôjde k absorpcii inokula.

Kultúry z kožných lézií s podozrením na prítomnosť *M. marinum* alebo *M. ulcerans* je nutné inkubovať pri teplote 25 až 33 °C pre primárnu izoláciu;

kultúry s podozrením na prítomnosť *M. avium* alebo *M. xenopi* vykazujú optimálny rast pri teplote 40 až 42 °C. Inkubujte paralelnú kultúru pri teplote 35 až 37 °C.

4. Kultúry by sa mali vyšetriť do 2 až 5 dní po inokulácii, aby sa umožnila skorá detekcia rýchlo rastúcich mykobaktérií. Mladé kultúry (do veku 4 týždňov) by sa mali vyšetrovať dvakrát týždenne, zatiaľ čo staršie kultúry by sa mali vyšetrovať v týždňových intervaloch.

5. Predbežný výsledok je po 6. týždňoch kultivácie. Kultivácia je definitívne ukončená až po 9-tich týždňoch kultivácie. Z pozitívnej kultivácie sa vyhotoví mikroskopický preparát a v prípade nálezu paličiek následne prebieha identifikácia na základe analýzy DNA a stanovenie citlivosti na antituberkulotiká.

Odčítanie a interpretácia

Po inkubácii pozorujte vo vyššie uvedených intervaloch rast baktérií a zaznamenajte špecifické morfológické a chromatické charakteristiky kolónií:

- M. tuberculosis*- zrnité, drsné, suché, nažltlé kolónie;
- M. kansasii*- hladké až drsné fotochromogénne kolónie;
- M. gordonae*- hladké žlté-oranžové kolónie;
- M. avium*- hladké, bezfarebné kolónie;


Potvrďte prítomnosť Acid-Fast bacilov v pozitívnych kultúrach farbením Ziehl-Nielsen alebo farbením auramín-fenol.

Podmienky kultivácie: 3 až 9 týždňov pri 37 ± 2 °C, aeróbne, variantne 30 °C

Kontrola kvality:

Mikroorganizmus	Rast	Vzhľad kolónií
<i>Mycobacterium smegmatis</i> CCM2300	+	nažltlé kolónie
Nenaočkované médium	-	-

Podľa viacerých vedeckých zdrojov je možné pre účely laboratórných experimentov a testov týkajúcich sa *Mycobacterium tuberculosis* použiť menej patogénny kmeň *Mycobacterium smegmatis* (mimo testu patogenity). (8, 9, 10)

Kat.číslo: MKM 05012	Vaječná pôda – Ogawa 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 Vaječná pôda - Ogawa 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.

Odporúčaný postup:

1. Naočkujte reprezentatívne vzorky nižšie uvedenými kultúrami.
 - a. Pomocou sterilných jednorazových 0,01 ml kalibrovaných kľúčiek naočkujte šikmé pôdypomocou mykobakteriálnych kultúr
 - b. Inkubujteskúmavky s povoleným uzáverom pri teplote 37 ± 2 °C v aeróbnom prostredí
2. Po 7, 14 a 21 dňoch rastu skontrolujte u skúmaviek rast, selektivitu a pigmentáciu.

Očakávané výsledky:


- Organizmy CLSI ATCC Výťažnosť
- **Mycobacteriumtuberculosis* H37Ra ATCC25177: rast
 - **Mycobacteriumkansasii*, skupina I ATCC 12478: rast
 - **Mycobacteriumscrofulaceum*, skupina II ATCC19981: rast
 - **Mycobacteriumintracellulare*, skupina III ATCC 13950: rast
 - **Mycobacteriumfortuitum*, skupina IV ATCC 6841: rast

Charakteristika výkonu: Pred uvoľnením do predaja je hotové kultivačné médiumVaječná pôda - Ogawatestované na produktivitu porovnaním výsledkov s predtým schválenou referenčnou šaržou.

Produktivita (Pr)je testovaná kvalitatívne, naočkováním šikmej plochy Ogawareferenčným kmeňom cieľového mikroorganizmu - *Mycobacteriumsmegmatis*CCM2300 a následnouinkubáciou pri 37 °C v aeróbnjej atmosféreRozsah rastu a charakteristika kolónií súzaznamenané po 5, 14, 21 dňoch. Kmeň rastie s typickými kolóniami pred 21. dňom inkubácie.

Ak referenčný kmeň vykazuje po inkubácii pri 37 °Cpočas 5, 14, 21 dňoch v aeróbnjej atmosfére dobrý rast, farbu a morfológiu podľa špecifikácie pre obe testované šarže, produkt spĺňa deklarovaný výkon.

- Obmedzenia testu:**
- Na úplnú identifikáciu sa odporúča vykonať biochemické a/alebo sérologické testy na kolóniách z čistej kultúry.
 - Na skrátenie doby izolácie a na dosiahnutie rýchlejšej identifikácie sa dôrazne odporúča použitie kombinácie tuhého a kvapalného média. To umožňuje skrátiť inkubačný čas.
 - Médiá na báze vajec umožňujú rast niektorýchkmeňov komplexu *M. tuberculosis* a niektorých netuberkulózných druhov, ktoré sa nedokážu vyvinúť v tekutom prostredí.
 - Negatívna kultivácia nevylučuje prebiehajúcu mykobakteriálnu infekciu. Existuje niekoľko faktorov, ktoré môžu byť zodpovedné za negatívnekultúry aj v prítomnosti infekcie: nereprezentatívna vzorka, mykobaktérie zničené počas trávenia a dekontaminácievzorky, prítomnosť kontaminantov, ktoré maskujú alebo inhibujú rast mykobaktérií, neadekvátne inkubačné podmienky.
 - Falošne pozitívne kultúry môžu byť výsledkom nesprávneho označenia, výmeny vzoriek počas manipulácie, prenosu vzorky, kontaminovaných činidiel,alebo krížovej kontaminácie medzi skúmavkami s kultúrami.
 - Ogawamédium obsahuje malachitovú zeleň a je fotosenzitívne a nemalo by byť počas skladovania vystavené svetlu.
 - Ogawa môže vykazovať určité rozdiely v svetlozelenej farbe v skúmavke. To však nemá vplyv na rastmykobaktérií;

Kat.číslo: MKM 05012	Vaječná pôda – Ogawa In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka Len na profesionálne použitie	
---------------------------------------	--	--

- Farebné zmeny s jasne žltými alebo tmavomodrými zónami však môžu naznačovať kontamináciu.
- Prítomnosť žltých granúl v dôsledku lipidovej časti vajička neovplyvňuje výkonnosť média.
- Odporúča sa, aby sa na izolátoch vykonali vhodné testy identifikácie a citlivosti. Podrobné postupy konzultujte príslušné referencie.
- Toto kultivačné médium je určené ako pomôcka pri diagnostike infekčných ochorení; musí sa vykonať interpretácia výsledkov berúc do úvahy klinickú anamnézu pacienta, pôvod vzorky a výsledky iných diagnostických testov.

Stabilita: Kultivačné médium je pri dodržaní odporúčaných skladovacích podmienok stabilné 3 mesiace odo dňa výroby.

Dátum expirácie je uvedený na štítku výrobku 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 dlhodobé 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 skúmavkách.

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: Použité a nepoužité, či kontaminované produkty likvidovať ako NEBEZPEČNÝ odpad v zmysle platných legislatívnych predpisov a interných postupov.

Bezpečnostné upozornenia a varovania: Vaječná pôda - Ogawa 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.

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 diagnostickéj zdravotníckej pomôcky.

Kat.číslo: MKM 05012	Vaječná pôda – Ogawa In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka Len na profesionálne použitie	
---------------------------------------	--	--

Nepoužívať výrobky po uplynutí doby expirácie.

Nepoužívať výrobky, ktoré vykazujú známky mikrobiálnej kontaminácie, vysušenia, mechanického poškodenia (poškodený vrchný obal alebo ochranné fólie, prasknutieatd), 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 koncového používateľa zodpovednosti za kontrolu vhodnosti produktu Vaječná pôda - Ogawa 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 deklarovaným výkonom a iných nedostatkov tejto in vitro diagnostické zdravotníckej pomôcky hlásiť okamžite po zistení výrobcovi na e-mailovú adresu obchod@mkbtest.sk. v prípade závažnej

Dostupné vyhotovenia:

Kat. č.	Vyhotovenie, Objem	Doplňujúce označenie	Balenie
MKM05012-010	Skúmavka, 5 ml	(5 ml)	10 ks

Použité symboly na vonkajšom obale:


 Katalógové číslo	 Číslo šarže	 In vitro diagnostická pomôcka	 Výrobca	 Dátum trvanlivosti	 Európska zhoda
 Teplotný limit	 Obsah postačuje na <n> testov	 Pozri na použitie	 Len na jedno použitie	 Uchovávajte mimo slnečného svetla	 Týmto smerom nahor

Použitá literatúra:

- 1.Ceyhan I, Simşek H, Tarhan G. TüberkülozunTanısında %2 OgawaBesiyerininLöwenstein-JensenBesiyeriileKarşılaştırılmasiveDeğerlendirilmesi [Comparison and evaluation of Lowenstein-Jensenmedium and 2% Ogawamediumforthediagnosis of tuberculosis]. MikrobiyolBul. 2012 Jan;46(1):33-8. Turkish. PMID: 22399169.
- 2.https://www.wikiskripta.eu/w/Atypick%C3%A1_mykobakteria [21.09.2021]
- 3.Votava M. Kultivační půdy v lékařskémikrobiologii. 1. vydání; Hortus; 2000.
4. 2. Bae E, Im JH, Kim SW, Yoon NS, Sung H, Kim MN, et al. Evaluation of combination of BACTEC mycobacteriagrowthindicator tube 960 system and OgawamediaforMycobacterialculture. Korean J Lab Med. 2008. 28:299–306.
5. <https://microbenotes.com/mycobacterium-tuberculosis/> [22.09.2021]
6. https://www.wikidoc.org/index.php/Mycobacterium_smegmatis [22.09.2021]
7. T JAS, J R, Rajan A, Shankar V. Features of thebiochemistry of Mycobacteriumsmegmatis, as a possible model forMycobacteriumtuberculosis. J InfectPublic Health. 2020 Sep;13(9):1255-1264. doi: 10.1016/j.jiph.2020.06.023. Epub 2020 Jul 13. PMID: 32674978.
8. Tyagi JS, Sharma D. Mycobacteriumsmegmatis and tuberculosis. TrendsMicrobiol. 2002 Feb;10(2):68-9. doi: 10.1016/s0966-842x(01)02296-x. PMID: 11827806.
9. David Lubasi, Charity Habenzu and SatoshiMitarai. Evaluation of anOgawaMycobacteriumculturemethodmodifiedforhighersensitivityemployingconcentratedsamples. TropicalMedicine and Health Vol. 32 No. 1, 2004, pp. 1-4
10. <https://www.solen.cz/pdfs/neu/2019/02/03.pdf>[22.09.2021]

Výrobca:

MkB Test a.s.
Rosina 169
013 22 Rosina
Slovenská republika

Kat.číslo: MKM 05012	Vaječná pôda – Ogawa In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka Len na profesionálne použitie	
---------------------------------------	--	--

Tel: (+421) 41 500 3555
 www.mkbtest.sk

Revízie:

Verzia	Revízia č.	Zmena	Dátum
2	1	Kontrola pred hlásením IVD ZP na ŠÚKL	18.07.2018
	2	Aktualizácia a doplnenie obsahu v súlade s IVDR 2017/746	22.09.2021
	3	Doplnenie Charakteristiky výkonu Doplnenie Účelu určenia o informáciu Vaječná pôda Ogawa je kvalitatívna in vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka, určená len na profesionálne použitie.	19.11.2021
	4	Doplnenie údajov v časti: Účel určenia Formálne zmeny v časti: Charakteristika výkonu, Bezpečnostné upozornenia a varovania Zmena poradia častí Dostupné vyhotovenia až Použitá literatúra	18.05.2023