

Kat.číslo:
MKM 07022

KP pôda (Hajn/ MIU)
In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka
Len na profesionálne použitie



Návod na použitie

Účel určenia:

Kombinované diagnostické kultivačné médium je určené na predbežnú identifikáciu enterobaktérií izolovaných z klinických vzoriek, najmä na odlišenie rodov *Proteus* a *Salmonella* a pohyblivých kmeňov escherichíí od shigell.

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

Skupina:

Médium kultivačné – biochemický multi – test, Neselektívne a diferenciálne kultivačné médium

Princíp:

Kultivačné médium je zložené z média Hajn a MIU.

Hajn – identifikácia je založená na schopnosti mikroorganizmov skvasovať glukózu, tvoriť sírovodík a plyn. Štiepenie cukrov je indikované zmenou farby média v prítomnosti fenolovej červene ako indikátora. Tvorba plynu sa zistí narušením kompaktnosti agarovej vrstvy tvorbou bublín alebo pretrhaním agaru. Produkcia sírovodíka sa prejaví sčernením média v prítomnosti síranu železnatého a thiosíranu sodného.

MIU – identifikácia je založená na dôkaze pohybu, tvorby indolu a štiepenia močoviny. Enzymatický hydrolyzát kazeínu v médiu je zdrojom tryptofánu potrebného pre tvorbu indolu. Produkcia indolu je detekovaná Kováčovým činidlom za vzniku červeného prstenca na rozhraní média a činidla. Močovina je zdrojom dusíka pre mikroorganizmy produkujúce ureázu. Indikátorom je fenolová červeň. Hydrolýzou (štiepením) močoviny sa pôda alkalizuje a farbí sa do ružova až červena. Nízka koncentrácia agaru umožňuje preukázanie pohyblivosti.

Očakávané výsledky:

Hajn:

baktérie skvasujúce glukózu – žltá farba agarového stĺpca
baktérie tvoriace sírovodík (H₂S) - sčernenie média
baktérie tvoriace plyn – trhliny v agare

MIU:

baktérie štiepiace močovinu (ureu) - zmena farby média zo žltej na ružovú až červenú
baktérie tvoriace indol – po pridaní Kováčovho činidla tvorba červeného prstenca na rozhraní média a činidla
baktérie so schopnosťou pohybu – difúzny rast mimo očkovacej čiary

Zloženie

(v gramoch na liter média):

Hajn

Mäsový peptón	10
Enzymatický hydrolyzát kazeínu	10
Kvasničný extrakt	3
Hovädzí extrakt	3
Laktóza	10
Sacharóza	10
Glukóza	1
Chlorid sodný	5
Síran železnatý	0,2
Thiosíran sodný	0,3
Fenolová červeň	0,024
Agar	12

MIU

Enzymatický hydrolyzát kazeínu	30
Chlorid sodný	5
Dihydrogénfosforečnan draselný	2
Močovina	20
Agar	2,5
0,25% fenolova červeň	7 ml

Kat.číslo:
MKM 07022

KP pôda (Hajn/ MIU)
In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka
Len na profesionálne použitie



pH: 7,4 ± 0,2 (Hajn) / 6,8 ± 0,2 (MIU)

Farba: Červená (Hajn) / Jantárová (MIU)

Poskytovaný materiál: KP pôda – ready-to-use-medium, vyhotovenie a počet kusov v závislosti od katalógového čísla (Pozrite dostupné vyhotovenia).

Požadovaný, ale neposkytovaný materiál: Sterilné kľučky, podľa potreby pomocné kultivačné média a činidlá (Kováčsovo činidlo), inkubátor.

Typy vzoriek: Čistá kultúra izolovaná z klinických vzoriek. KP pôda (Hajn/ MIU) sa nesmie použiť na priamu inokuláciu vzorky. Viac informácií v časti Obmedzenia testu.

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

Pracovný postup: Pred očkovaním nechať skúmavky vytemperovať na izbovú teplotu.

Suspektné kolónie v čistej kultúre asepticky naočkovať vpichom do stredu celého agarového stĺpca v skúmavke a nechať inkubovať za podmienok vid'. Podmienky kultivácie.

Štiepenie močoviny a pohyb vyhodnotiť pred pridaním Kováčsovo činidla.

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.

Podmienky kultivácie: 18 až 24 hodín pri 37°C, aeróbne

Kontrola kvality:

Mikroorganizmus	Rast	Pohyb	Tvorba indolu	Štiepenie močoviny	Tvorba H ₂ S
<i>Escherichia coli</i> CCM 3954	+	+	+	-	-
<i>Salmonella enteritidis</i> CCM 4420	+	+	-	-	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i> CCM 4985	+	-	-	-	-
<i>Proteus mirabilis</i> CCM 1944	+	+	-	+	+

Pohyb (+) - difúzny rast mimo očkovacej čiary

Tvorba indolu (+) – červený prstenec na rozhraní média a činidla po pridaní Kováčsovo činidla

Štiepenie močoviny (+) – zmena farby média na ružovú až červenú

Tvorba H₂S (+) - sčernanie média

Mikrobiologický stav: Kultivačné média spoločnosti MkB Test a.s. sú naplnené asepticky (najprv prebehne sterilizácia a až následne 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%.

Dodatková kontrola kvality používateľom: Všetky vyrobené šarže produktu KP pôda 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 živých pôd.

Kat.číslo:
MKM 07022

KP pôda (Hajn/ MIU)
In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka
Len na profesionálne použitie



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 testované charakteristiky výkonu hotového kultivačného média a súčasne i dehydrovaného základu, a to porovnaním výsledkov s predtým schválenou referenčnou šaržou.

Čisté kolónie referenčných kmeňov *Escherichia coli* CCM 3954, *Salmonella enteritidis* CCM 4420, *Klebsiella pneumoniae* CCM 4985 a *Proteus mirabilis* CCM 1944, kultivované na Tryptón sójovom agare, prípadne Columbia krvnom agare, sú naočkované do skúmaviek s médiom v súlade s Pracovným postupom.

Po aeróbnej kultivácii pri 37°C počas 18 až 24 hodín sa zaznamenáva pohyb, tvorba indolu, štiepenie močoviny a tvorba sírovodíka (H₂S). Ak všetky kmene vykazujú reakcie podľa špecifikácie (viď Kontrola kvality) u oboch testovaných šarží, produkt spĺňa deklarovaný výkon.

Obmedzenia testu:

Na identifikáciu musí byť použitá čistá kultúra.

Vrstva Hajn: Niektoré baktérie môžu vykazovať produkciu H₂S na Kligler Iron Agar, ale nie na Hajn agare. To sa môže stať v dôsledku použitia sacharózy v Hajn agare, ktorá potláča enzymatickú dráhu, ktorá vedie k produkcii H₂S.

Je dôležité urobiť vpich celým stĺpcom média. Jeho neprepichnutie vedie ku chybe testu. Pri vpichu musí byť zachovaná celistvosť agaru.

Počas tohto testu musia byť uzávery uvoľnené, inak sa vyskytnú chybné výsledky. Reakcie na Hajn by sa nemali čítať po 24 hodinách inkubácie, pretože prebieha aeróbná oxidácia fermentačných produktov z laktózy a/alebo sacharózy a sklon (šikmá plocha) sa nakoniec vráti do alkalického stavu.

Organizmus, ktorý produkuje sírovodík, môže maskovať produkciu kyseliny v stĺpci média. Produkcia sírovodíka však vyžaduje kyslé prostredie, preto by sa mala zadná časť považovať za kyslú.

Hajn nie je taký citlivý na detekciu sírovodíka v porovnaní s inými médiami obsahujúcimi železo, ako je napríklad médium sulfid-indolová pohyblivosť (SIM). Organizmy, ktoré majú slabú produkciu sírovodíka, môžu teda vykazovať iba stopovú aktivitu sírovodíka alebo vôbec žiadnu. Niektoré kmene rodu *Enterobacteriaceae* a *Salmonella* produkujúce H₂S nemusia byť na Hajn agare H₂S pozitívne.


Niektoré druhy alebo kmene môžu spôsobiť oneskorené reakcie alebo úplne zlyhať pri fermentácii uhľohydrátov uvedeným spôsobom. Ak však organizmus nedokáže skvasiť glukózu do 48 hodín, s najväčšou pravdepodobnosťou nepatrí do čeľade *Enterobacteriaceae*.

Vrstva MIU: Štiepenie močoviny a pohyb vyhodnotiť pred pridaním Kováčovho činidla.

Pri očkovaní polotuhého média je dôležité, aby bola očkovacia kľučka naspäť ťahaná presne po rovnakej línii ako pri vpichu. Vejárovitý pohyb môže viesť k rastu pozdĺž bodnej línie, čo môže viesť k falošne pozitívnej interpretácii.

Organizmy, ktoré sú slabo pohyblivé, môžu viesť k falošne negatívnym reakciám.

KP pôda: na konečné určenie čistej kultúry je nutné vykonať ďalšie biochemické, imunologické, molekulárne testy alebo hmotnostnú spektrometriu.

Kat.číslo: MKM 07022	KP pôda (Hajn/ MIU) In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka Len na profesionálne použitie	
---------------------------------------	---	--

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 3 mesiace odo dňa výroby.

Médium sa môže očkovať až do dátumu expirácie a inkubovať po odporúčanú dobu inkubácie. 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 dlhodobšie skladovanie pri vyššej ako odporúčanej teplote môže znegodnotiť 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: KP pôda (Hajn/ MIU) 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.

Kat.číslo: MKM 07022	KP pôda (Hajn/ MIU) In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka Len na profesionálne použitie	
---------------------------------------	---	--

IVD diagnostická zdravotnícka pomôcka **len na jedno použitie.**

Odčítanie výsledkov rastu na médiu môže byť sťažené pre ľudí, ktorí majú problémy s rozpoznávaním farieb.

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.

Informácie použité v tomto dokumente boli definované podľa našich najlepších vedomostí a schopností, a predstavujú návod na použitie produktu. Nami uvedené informácie nezabavujú koncového používateľa zodpovednosti za kontrolu vhodnosti produktu KP pôda (Hajn/ MIU) 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 diagnostickej 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, Objem	Doplňujúce označenie	Balenie
MKM 07022-010	Skúmavka (16x150 mm), objem 2 + 2 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 Návod na použitie	 Len na jedno použitie	 Uchovávajte mimo slnečného svetla	 Týmto smerom nahor

Použitá literatúra:

- <https://himedialabs.com/TD/M021.pdf> [27.09.2021]
- <https://microbenotes.com/triple-sugar-iron-agar-tsia-test/> [27.09.2021]
- Votava M. *Kultivační půdy v lékařské mikrobiologii*. 1. vydání; Hortus; 2000.
- <https://microbiologyinfo.com/motility-test/> [28.09.2021]

Výrobca:

MkB Test a.s.
 Rosina 169
 013 22 Rosina
 Slovenská republika
 Tel: (+421) 41 500 3555
www.mkbtest.sk

Kat.číslo:
MKM 07022

KP pôda (Hajn/ MIU)
In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka
Len na profesionálne použitie



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	28.09.2021
	3	Aktualizácia a doplnenie údajov v časti: Účel určenia, Charakteristika výkonu Bezpečnostné upozornenia a varovania	10.11.2021