


Kat.číslo: MKM X4017	<h1>Legionella GVPC agar</h1> <p>In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka Len na profesionálne použitie</p>	
---------------------------------------	--	--

Návod na použitie

Účel určenia: Čiastočne selektívne kultivačné médium určené na izoláciu *Legionella spp.* z klinických a neklinických vzoriek.

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

Skupina: Médium kultivačné tuhé – selektívne a nediferenciálne

Princíp: Kvasničný extrakt poskytuje zdroje dusíka, uhlíka a vitamínov. Aktívne uhlie neutralizuje toxické metabolické vedľajšie produkty. ACES a hydroxid draselný zaisťujú optimálne pH. Rastovými faktormi sú α -ketoglutarát draselný. Pyrofosfát železitý a L-cysteín, čo je aminokyselina pre *Legionella spp.* nevyhnutná. Glycín a tri antibiotiká zabezpečujú selektivitu voči necieľovým mikroorganizmom.

Legionella GVPC je médium odporúčané normou ISO 11731 a ISO 11731-2.

Očakávané výsledky: *Legionella pneumophilla*: bielosivé až modrosivé často mukoidné kolónie

Zloženie
(v gramoch na liter média):

Kvasničný extrakt	10
Pyrofosfát železa	0,25
ACES pufer	10
Aktívne uhlie	2
α -ketoglutarát draselný	1
Agar	15
Hydroxid draselný	2,4
L-Cysteín	0,4
Glycín	3
Vankomycín hydrochlorid	1 mg
Polymyxín B sulfát	80.000 IU
*Cykloheximid	80 mg

- Cykloheximid môže byť nahradený Amfotericínom v množstve 10 mg na liter konečného média

pH: 6,85 \pm 0,1

Farba: čierna


Poskytovaný materiál: Legionella GVPC agar – 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: najmä vzorky z dolných ciest dýchacích ako spútum. Vzorky odoberať ešte pred antimikrobiálnou liečbou. Pri odbere, transporte a skladovaní klinických vzoriek dodržujte správne laboratórne postupy.

Neklinické vzorky: environmentálne vzorky vrátane pitnej, priemyselnej a prírodnej vody a súvisiacich materiálov. Pri odbere, transporte, skladovaní a úprave neklinických vzoriek dodržujte príslušné normy.

Pracovný postup: Vzorky naočkovať čo najskôr po prijatí vzorky do laboratória. Pred očkovaním nechať platne vytemperovať na izbovú teplotu a vysušiť povrch média.

Kat.číslo: MKM X4017	Legionella GVPC agar In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka Len na profesionálne použitie	
---------------------------------------	--	--

Klinická vzorka:

Pred samotnou inokuláciou je potrebné upraviť vzorku, a to zriedením 1:10 v Tryptón sójovom bujóne, alebo v prípade hustého spúta je potrebné ho rozrušiť a stekutiť za použitia napr. Broncholyzín 2 %.Plus.

Pre zníženie kontaminujúcej mikroflóry je potrebné vzorku zriediť v pomere 1:10 KCl – HCl pufrom – napr. Tlmivý roztok pre legionely - s nízkym pH (pH 2,2) (MKM 10294 alebo MKM 10032).

Klinický materiál/ homogenizovanú vzorku asepticky naniesť na povrch kultivačného média (oterom výterového tampónu alebo sterilnou kľučkou) a následne rozočkovať na celú plochu misky pre účely izolácie čistých kultúr zo vzoriek so zmiešanou flórou. Inkubovať za podmienok vid'. Podmienky kultivácie.

Na určenie izolovaných kolónií je nutné použiť ďalšie identifikačné metódy.

Kultivácia Legionella spp. v súlade s ISO 11731 a ISO 11731-2:

Príprava vzorky a postup:

Úprava vzorky teplom: umiestniť vzorku do vodného kúpeľa na 30+/-2 minúty pri teplote 50 °C

Úprava vzorky kyselinou: 1 časť vzorky vložiť do 9 častí Tlmivej vody pre legionelly (MKM 10032 alebo 10294).

Úprava membránových filtrov kyslým roztokom: 30 ml Tlmivej vody pre legionelly (MKM 10032 alebo 10294) naliať na membránový filter a nechať pôsobiť 5 minút. Filter vybrať z roztoku a prepláchnuť destilovanou vodou alebo Ringer roztokom (MKM 10025)

PV prípade, že vzorka obsahuje vysokú koncentráciu kmeňov Legionella spp. a nízku koncentráciu rušivej mikroflóry, priamo naočkovať 0,1 až 0,5 ml vzorky na platňu Legionella BCYE (MKM 04017) agar a na platňu Legionella GVPC (MKM X4017). Inkubovať za podmienok vid'. Podmienky kultivácie, Legionella GVPC inkubovať až do 10 dní.

V prípade, že vzorka obsahuje nízku koncentráciu Listeria spp. a nízku koncentráciu rušivej mikroflóry, prefiltrovať prvotnú vzorku cez membránový filter a membránový filter upravený kyslým roztokom následne filtre umiestniť na povrch platní s Legionella BCYE agar (MKM 04017). Postup zopakovať s médiom Legionella GVPC (MKM X4017). Inkubovať za podmienok vid'. Podmienky kultivácie, Legionella GVPC inkubovať až do 10 dní.


V prípade, že vzorka obsahuje vysokú koncentráciu rušivej mikroflóry, vzorku rozdeliť na 3 časti, pričom prvú ponechať bez úpravy, druhú upraviť tepelne a tretiu kyslým roztokom. Zo všetkých troch typov vzorky odobrať po 0,1 až 0,5 ml a naočkovať na platne Legionella BCYE (MKM 04017) agar a Legionella GVPC agar. Inkubovať 7 až 10 dní, pri 36±2°C, aeróbne.

Najmenej 3 typické kolónie z každej platne po inkubácii vyočkovať na platne Legionella BCYE bez cysteínu a Legionella BCYE. Inkubovať 48 hodín až 5 dní, pri 36±2°C, aeróbne. Kolónie, ktoré budú rásť na Legionella BCYE bez cysteínu (MKM 10089) sú považované za Legionella.

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:

48 hodín až 5 dní, prípadne až do 10 dní pri 36±2°C, aeróbne, pri zvýšenej vlhkosti

Kat.číslo: MKM X4017	Legionella GVPC agar In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka Len na profesionálne použitie	
---------------------------------------	--	--

Kontrola kvality:

Mikroorganizmus	Rast	*Kritériá/ Miera produktivity (P _R)
<i>Legionella pneumophila</i> CCM 7799	+, bielosivé až modrosivé často mukoidné kolónie	≥ 0,7 (voči už preverenej šarži Legionella GVPC)
<i>Enterococcus faecalis</i> CCM 4224	-	úplná inhibícia (0)
<i>Escherichia coli</i> CCM 3954	+/-	úplná alebo čiastočná inhibícia (0-1)

***Rastové vlastnosti kultivačného média vyhovujú požiadavkám normy EN ISO 11133:2014.**

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 Agar pre kultiváciu Legionella GVPC agar 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. Odporúčané kmene sú uvedené v časti Kontrola kvality.

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 referenčným kmeňom cieľového mikroorganizmu - *Legionella pneumophila* CCM 7799, s použitím inokula ≤ 100 KTJ.

Selektivita je testovaná referenčným kmeňom necieľového mikroorganizmu - *Enterococcus faecalis* CCM 4224, s použitím inokula 10⁸ KTJ.

Ak má kultivačné médium Pr ≥ 0,7 (pomer počtu kolónií na testovanom médiu a médiu referenčnom) u cieľových mikroorganizmov, morfológiu a farbu kolónií typickú pre dané médium a potvrdená je inhibícia u necieľových mikroorganizmov po kultivácii pri 35±2 °C počas 48 hodín až 5 dní v aeróbnej atmosfére pri zvýšenej vlhkosti, výsledky sa považujú za prijateľné a v súlade so špecifikáciami. Produkt spĺňa deklarovaný výkon.


Obmedzenia testu:

Legionella GVPC je len čiastočne selektívne médium. Materiály s veľkým množstvom kontaminujúcich mikroorganizmov musia byť najprv dekontaminované.

GVPC supplement môže byť mierne inhibičný pre niektoré druhy legionel, čo vyžaduje dlhší inkubačný čas a môžu sa dosiahnuť nižšie hodnoty výťažnosti. Preto by sa pri používaní tohto média malo používať súčasne aj neselektívne médium pre *Legionella spp.*

Platne s charakteristickým rastom a kolóniami, u ktorých sa predpokladá, že sú identifikované ako *Legionella*, sa musia podrobiť konfirmačným testom biochemickými, imunologickými, molekulárnymi technikami alebo hmotnostnou spektrometriou.

V klinickej mikrobiológii musí byť diagnostika legionelózy založená na interdisciplinárnom prístupe, ktorý zahŕňa rádiologické výsledky, stanovenie močového antigénu.

Kat.číslo: MKM X4017	Legionella GVPC agar 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 4 mesiace odo dňa výroby.

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 °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 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.

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:

Použitie a nepoužitie, či kontaminované produkty likvidovať ako NEBEZPEČNÝ odpad v zmysle platných legislatívnych predpisov a interných postupov.

Bezpečnostné upozornenia a varovania:

Legionella GVPC 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 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 X4017	Legionella GVPC agar In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka Len na profesionálne použitie	
---------------------------------------	--	--

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

Akokoľvek 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.

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 Legionella GVPC agar 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 deklarovávaným výkonom a iných nedostatkov tejto in vitro diagnostickéj zdravotníckej pomôcky hlásiť okamžite po zistení výrobcovi na e-mailovú adresu obchod@mkbttest.sk. v prípade závažnej nehody spôsobenej pomôckou, hlásiť túto udalosť príslušným orgánom a výrobcovi na vyššie uvedenú adresu.

Dostupné vyhotovenia:


Kat. č.	Vyhotovenie	Doplňujúce označenie	Balenie
MKM X4017-005	Petriho miska 90 mm, 18 ml (PM90)	-	5 ks
MKM X4017-010	Petriho miska 90 mm, 18 ml (PM90)	-	10 ks
MKM X4017-020	Petriho miska 90 mm, 18 ml (PM90)	-	20 ks
MKM X4017-120	Petriho miska 90 mm, 18 ml (PM90)	-	120 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:

1. Difco™ & BBL™ Manual, Second Edition
2. <http://www.biollifeit.com/public/cartellina-allegati-schede-certificazioni/schede-tecniche-inglese/TS-499995.pdf> [25.08.2021]
3. Votava M. Kultivační pŕdy v lékařské mikrobiologii. 1. vydání; Hortus; 2000
4. STN EN ISO 11731. Kvalita vody. Stanovenie počtu baktérií Legionella (ISO 11731:2017)
5. STN EN ISO 11731-2. Kvalita vody. Stanovenie Legionella. Časť 2: Metóda priamej membránovej filtrácie pre vody s malým počtom baktérií (ISO 11731-2:2004)
6. STN EN ISO 11133. Mikrobiológia potravín, krmív a vody. Príprava, výroba, uchovávanie a skúšky výkonnosti kultivačných médií (ISO 11133: 2014, opravená verzia z 1. 11. 2014)

Kat.číslo: MKM X4017	Legionella GVPC agar In vitro diagnostická zdravotnícka pomôcka Len na profesionálne použitie	
---------------------------------------	--	--

Výrobca:

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

Revízie:

Verzia	Revízia č.	Zmena	Dátum
2	1	Kontrola pred hlásením IVD ZP na ŠÚKL	12.2.2019
	2	Aktualizácia a doplnenie obsahu v súlade s IVDR 2017/746	25.08.2021
	3	Aktualizácia a doplnenie údajov v časti: Účel určenia, Charakteristika výkonu Bezpečnostné upozornenia a varovania	27.10.2021