

PROCEDURY KONTROLI JAKOŚCI**I WPROWADZENIE**

Produkt Motility Indole Ornithine (MIO) Medium (Podłoże „ruchliwość-indol-ornityna”) jest półstałym podłożem, przydatnym do identyfikacji bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*.

II PROCEDURA TESTU

1. Poluzować nakrętki, ogrzać próbówki we wrzącej łaźni wodnej* i ochłodzić przed użyciem.

***UWAGA:** Nie zaleca się korzystania z kuchenki mikrofalowej.

2. Zaszczepić reprezentatywne próbki podłoża hodowlami wymienionych poniżej szczepów.
 - a. Używając rozcieńczeń 10^{-1} hodowli szczepów, hodowanych 18 – 24 h na podłożu **Trypticase Soy Broth**, zaszczepić próbówki poprzez przebicie podłoża igłą do posiewów na głębokość mniejszą niż 0,6 cm od dna podłoża.
 - b. Inkubować próbówki z poluzowanymi nakrętkami w temperaturze $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ w atmosferze tlenowej.
3. Skontrolować próbówki po upływie 18 – 24 h, oceniając wzrost drobnoustrojów, ich ruchliwość oraz wyniki reakcji w kierunku aktywności dekarboksylazy ornityny i wytwarzania indolu. Jeżeli wynik reakcji indolowej jest ujemny, inkubować przez dodatkowe 24 h.
4. Oczekiwane wyniki

Mikroorganizmy	ATCC	Ruchliwość	Indol	Ornityna
* <i>Escherichia coli</i>	25922	+	+	+
* <i>Enterobacter aerogenes</i>	13048	+	–	+
* <i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i>	33495	–	–	–
<i>Morganella morganii</i>	8019	+	+	+
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serotyp Typhi	19430	+	–	–

*Szczep zalecany do przeprowadzania kontroli jakości przez użytkownika.

III DODATKOWA KONTROLA JAKOŚCI

1. Ocenить próbówki według opisu w punkcie „Pogorszenie jakości produktu”.
2. Wzrokowo ocenić reprezentatywne próbówki, aby upewnić się, że żadne istniejące wady fizyczne nie będą przeszkadzały w ich użytkowaniu.
3. Inkubować reprezentatywne próbówki bez wysianych drobnoustrojów w temperaturze 20 – 25°C i 30 – 35°C i ocenić po 7 dniach pod względem zanieczyszczenia drobnoustrojami.

INFORMACJA O PRODUKCIE**IV PRZEZNACZENIE**

Podłoże Motility Indole Ornithine (MIO) Medium stosuje się do wykazania ruchliwości, zdolności do wytwarzania indolu i aktywności dekarboksylazy ornityny w celu różnicowania bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*.

V STRESZCZENIE I OBJAŚNIENIE

Podłoże Motility Indole Ornithine Medium opracowali Ederer i Clark¹ oraz Oberhofer i Hajkowski² w celu wykrywania ruchliwości oraz wytwarzania indolu i dekarboksylazy ornityny w jednej próbówce; jest to badanie pomocne podczas identyfikacji przedstawicieli rodziny *Enterobacteriaceae*.

VI ZASADY PROCEDURY

Peptony kazeinowy i żelatynowy, wyciąg z drożdży i dekstroza dostarczają związków azotu i węgla, witamin i związków mineralnych, niezbędnych dla metabolizmu bakterii. Przy obecności dekarboksylazy ornityny ornityna ulega reakcji dekarboksylacji do putrescyny, co powoduje wzrost pH i odpowiadającą mu zmianę zabarwienia purpury bromokrezolowej z żółtego na purpurowe.

VII ODCZYNNIKI

Motility Indole Ornithine Medium

Przybliżony skład* w przeliczeniu na 1 litr wody oczyszczonej

Trzustkowy hydrolizat kazeiny	9,5 g	Wodorochlorek L-ornityny	5.0 g
Trzustkowy hydrolizat żelatyny	10,0 g	Purpura bromokrezolowa	0.02 g
Wyciąg z drożdży	3,0 g	Agar	2.0 g
Dekstroza	1,5 g		

*Skorygowany lub uzupełniony zgodnie z wymaganiami kryteriów działania.

Ostrzeżenia i środki ostrożności: Do stosowania w diagnostyce *in vitro*.

Probówki z ciasno dokręconymi nakrętkami należy otwierać ostrożnie, aby uniknąć obrażeń spowodowanych pęknięciem szkła.

Podczas wykonywania wszystkich procedur należy przestrzegać zasad aseptyki i obowiązujących środków ostrożności, dotyczących zagrożenia mikrobiologicznego. Po wykorzystaniu gotowe probówki, pojemniki na próbki oraz inne materiały skażone należy przed wyrzuceniem poddać sterylizacji w autoklawie.

Instrukcje dotyczące przechowywania: Otrzymane probówki umieścić i przechowywać w zaciemnionym miejscu, w temperaturze 2 – 25°C. Unikać zamrażania i przegrzewania. Otwierać dopiero bezpośrednio przed użyciem. Ograniczać do minimum ekspozycję na światło. W podłożach przechowywanych do momentu użycia w probówkach, zgodnie z instrukcjami podanymi na etykiecie, można wykonywać posiewy do dnia określonego terminem ważności, a następnie prowadzić inkubację przez zalecany czas.

Pogorszenie jakości produktu: Nie używać probówek, jeżeli są widoczne oznaki skażenia mikrobiologicznego, zmiana zabarwienia, wysychanie lub inne, świadczące o pogorszeniu jakości.

VIII POBIERANIE PRÓBEK I POSTĘPOWANIE Z NIMI

Dostępne są różne techniki postępowania z próbkami umożliwiającymi uzyskanie hodowli. Szczegółowe informacje znajdują się w odpowiednich pozycjach piśmiennictwa.^{3,4} Probki należy uzyskać przed zastosowaniem środków przeciwbakteryjnych. Konieczne jest zapewnienie szybkiej dostawy do laboratorium.

IX PROCEDURA

Dostarczane materiały: Motility Indole Ornithine (MIO) Medium

Materiały wymagane, ale niedostarczane: Pomocnicze pożywki hodowlane, odczynniki, drobnoustroje do kontroli jakości i wyposażenie laboratoryjne zgodnie z wymaganiami.

Procedura testowa: Stosować techniki aseptyczne.

Poluzować nakrętki, rozgrzać podłoże do temperatury wrzenia* i ochłodzić przed zaszczepieniem do temperatury pokojowej. Używając hodowli z płytki wykorzystanej do pierwotnej izolacji lub innej czystej hodowli, zaszczepić probówki z podłożem poprzez pojedyncze przebicie podłoża na głębokość 0,6 cm od dna probówki. Inkubować wszystkie probówki przez 18 – 24 h w temperaturze 35 ± 2°C, w warunkach tlenowych.

***UWAGA:** Nie zaleca się korzystania z kuchenki mikrofalowej.

Kontrola jakości przez użytkownika: Patrz „Procedury kontroli jakości”.

Należy postępować zgodnie z obowiązującymi wymogami kontroli jakości, wynikającymi z przepisów miejscowych, krajowych lub federalnych, wymogami akredytacji i rutynowymi procedurami kontroli jakości w danym laboratorium. Zaleca się, aby użytkownik stosował się do odpowiednich wytycznych CLSI (dawniej NCCLS) i przepisów CLIA, dotyczących sposobów kontroli jakości.

X WYNIKI

Przed dodaniem odczynnika umożliwiającego wykrycie wytwarzania indolu ocenić wynik badania ruchliwości i aktywności dekarboksylazy ornityny.

1. Ruchliwość drobnoustrojów wskazuje ich wzrost rozprzestrzeniający się od linii posiewu. Drobnoustroje nieruchliwe rosną jedynie wzdłuż linii posiewu.
2. Dekarboksylację ornityny wskazuje powstawanie zabarwienia od mętnej purpury do wyblakłej barwy żółtopurpurowej. Ujemny wynik reakcji wskazuje zabarwienie żółte.
3. Wytwarzanie indolu wskazuje tworzenie się zabarwienia od różowego do czerwonego po dodaniu trzech lub czterech kropli odczynnika Kovacs'a na powierzchnię podłoża i delikatnym potrząśnięciu. Ujemny wynik reakcji wskazuje pojawianie się zabarwienia żółtego. Informacje na temat typowych wyników reakcji, stwierdzanych podczas testów różnych przedstawicieli rodziny *Enterobacteriaceae* znajdują się w odpowiednich pozycjach piśmiennictwa.³⁻⁵

XI OGRANICZENIA PROCEDURY

Do identyfikacji niezbędne są czyste kultury drobnoustrojów. W celu ostatecznej identyfikacji należy przeprowadzić badania morfologiczne, biochemiczne i/lub serologiczne. W celu uzyskania szczegółowych informacji oraz zalecanych procedur należy zapoznać się z odpowiednimi pozycjami piśmiennictwa.³⁻⁷

XII CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCIOWA

Przed dopuszczeniem do obrotu wszystkie partie podłoża Motility Indole Ornithine (MIO) Medium sprawdza się pod względem ich skuteczności. Przed użyciem reprezentatywne próbki z danej partii umieszcza się we wrzącej łaźni wodnej (po poluzowaniu nakrętek), a następnie ochładza w celu odtworzenia półstałej konsystencji podłoża. Probówki zaszczepia się poprzez przebicie podłoża igłą do posiewów na głębokość 0,6 cm od dna probówki; używa się rozcieńczenia 10^{-1} hodowli szczepów *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Morganella morganii* (ATCC 8019), *Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 33495) i *Salmonella Typhi* (ATCC 19430) na podłożu **Trypticase** Soy Broth. Probówki są inkubowane z poluzowanymi nakrętkami w temperaturze $35 \pm 2^\circ\text{C}$. Po inkubacji trwającej 18 – 24 h probówki kontroluje się, oceniając stopień wzrostu i aktywność dekarboksylazy ornityny. Wszystkie hodowle wykazują wzrost od umiarkowanego do intensywnego. Wszystkie hodowle wykazują ruchliwość, którą wskazuje wzrost rozprzestrzeniający się od linii posiewu poprzez całe podłoże, z wyjątkiem *K. pneumoniae*, która nie wykazuje ruchliwości, a jej wzrost jest wyraźny jedynie wzdłuż linii posiewu. *E. aerogenes*, *E. coli* i *M. morganii* dają wynik dodatni na obecność dekarboksylazy ornityny, wskazywany przez zabarwienie od mętnej purpury do wyblakłej barwy żółtopurpurowej, natomiast *K. pneumoniae* i *Salmonella Typhi* dają wynik ujemny, który wskazuje zabarwienie żółte. Następnie sprawdza się zdolność do wytwarzania indolu, dodając na powierzchnię podłoża w każdej probówce 3 – 4 krople odczynnika Kovacs. *E. coli* i *M. morganii* dają dodatni wynik testu na wytwarzanie indolu, co wskazuje tworzenie się zabarwienia podłoża od różowego do czerwonego. *E. aerogenes*, *K. pneumoniae* i *Salmonella Typhi* dają ujemny wynik testu na wytwarzanie indolu, zatem w podłożu nie zachodzi żadna reakcja (brak zmiany zabarwienia).

XIII DOSTĘPNOŚĆ

Nr kat.	Opis
221517	BD BBL Motility Indole Ornithine (MIO) Medium, 5 mL, opakowanie zawierające 10 probówek w rozmiarze K
221518	BD BBL Motility Indole Ornithine (MIO) Medium, 5 mL, karton zawierający 100 probówek w rozmiarze K

XIV PIŚMIENNICTWO

1. Ederer, G.M., and M. Clark. 1970. Motility-indole-ornithine medium. Appl. Microbiol. 2:849-850.
2. Oberhofer, T.R., and R. Hajkowski. 1970. Evaluation of non-lactose-fermenting members of the *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* division: I. Biochemical characteristics. Am. J. Clin. Pathol. 54:720-725.
3. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Tenover (ed.) 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
5. Ewing, W.H. 1986. Edwards and Ewing's identification of *Enterobacteriaceae*, 4th ed. Elsevier Science Publishing Co., New York.
6. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. Bergey's Manual™ of determinative bacteriology, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.
7. Farmer, J.J., III. 1999. *Enterobacteriaceae*: introduction and identification, p. 442-458. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

Dział Obsługi Technicznej firmy BD Diagnostics: należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem BD lub odwiedzić stronę www.bd.com/ds.



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA



Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD