

## Kontrola kvality ve vztahu ke kultivačním médiím



Eva Bazgerová  
Tomáš Látal



### Východiska

- **široké spektrum nabídky vstupů**
  - různé složení půd, suplementů,...
  - různé růstové vlastnosti
  - různé podmínky „stejných“ příprav
  - různá záruka standardnosti a opakovatelnosti po sobě jdoucích šarží
  - různá kvalita krve a krevních derivátů
- **empirické postupy**
  - neexistence „standardních“ receptur přípravy
  - „na špičku nože...“
  - paní Boženka
  - neprotokolovaná alchymie
- **různá úroveň připraven půd**
  - technologie (oba extrémny - „konev“ ... „hi-tech“)
  - odbornost
- **technické normy pro přípravu půd**
  - pouze pro „průmyslovou“ mikrobiologii (voda, potraviny, ...)

## Obecné požadavky na kultivační média KM

„100% kvalita“ =>

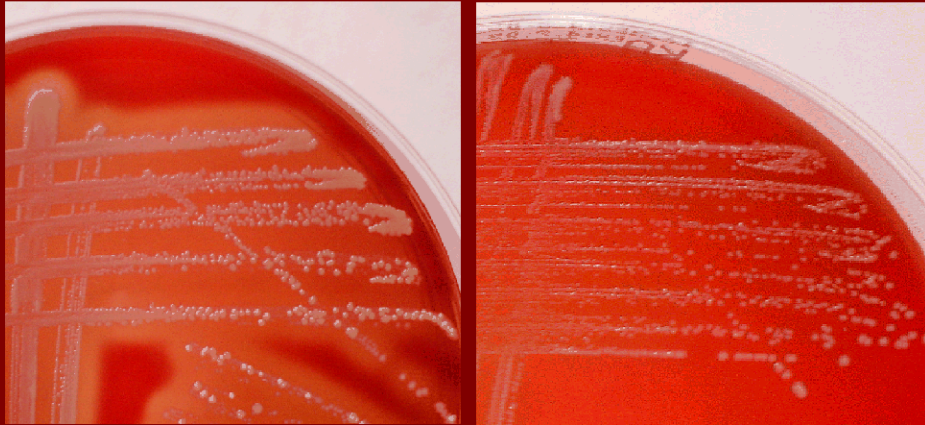
- 100% sterilita
- definované růstové vlastnosti
- opakovatelnost šarží

## Faktory ovlivňující přípravu KM

- kvalita vstupních komponent
- čistota prostor
- způsob přidávání krve a suplementů
- dávkování kultivačního média
- sterilizace
- kontaminace
- časové souvislosti výroby
- lidský faktor
- další faktory

## Má kontrola kvality vůbec smysl ???

Příklad:



## Výstupní kontrola neoddělitelná součást výroby KM

- normovaný technologický proces
- protokolovaný proces
- jasné, zpětně prokazatelné výsledky
- zamezí vydávání možných falešných diagnostických výsledků

## Složky kontroly kvality

- vizuální kontrola
- kontrola pH
- kontrola růstových vlastností, vč. stanovení citlivosti k ATB
- kontrola sterility
  
- vedení dokumentace

## Vizuální kontrola

- čírost
- barva, barevnostní homogenita
- výška agarové vrstvy / objem (MH)
- vlhkost

## Kontrola pH

### Možnosti měření

- ponoření elektrod pH-metru do tekutého média či „rozdrvenej“ půdy
- ponoření elektrod do média před ztuhnutím
- použití vpichové elektrody na měření pH

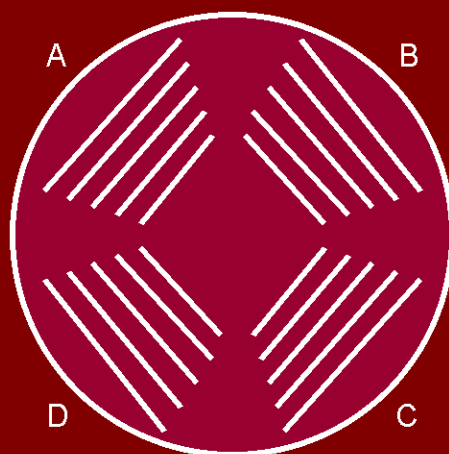
## Kontrola sterility

- pevná média, tekutá média
  - 24 hod. při 37 °C
  - 7 dní při 25 °C
- sterilita krve a krevních derivátů
  - automatický hemokultivační automat

## Kontrola růstových vlastností

- dle typu půd určené referenční kmeny
  - funkce
- Moselova metoda
- výpočet  $ID_{50}$ 
  - citlivost - výtěžnost

## Moselova metoda



## Růstový index

- Hodnotí se kvadrant a čára, na níž je ještě souvislý nárůst.

A1 = 5	B1 = 10	C1 = 15	D1 = 20
A2 = 25	B2 = 30	C2 = 35	D2 = 40
A3 = 45	B3 = 50	C3 = 55	D3 = 60
A4 = 65	B4 = 70	C4 = 75	D4 = 80
A5 = 85	B5 = 90	C5 = 95	D5 = 100

$$RI = \frac{\text{váha inokulační linie testované půdy}}{\text{váha inokulační linie kontrolní půdy}} * 100$$

## Kontrola ID<sub>50</sub>

ID<sub>50</sub> (infekční dávka 50 %)

=

záporný logaritmus toho ředění testovaného mikroba, při kterém se mikrob pomnoží v 50 % zkoušeného vzorku.

Mezní hodnoty testu:

- ID<sub>50</sub> ≥ 6,0 (aerobní mikroby)
- ID<sub>50</sub> ≥ 2,5 (anaerobní mikroby)

## ID<sub>50</sub> - hodnocení

- Hodnotí se to ředění, při kterém je v misce počítatelné množství kolonií.

Ředění	Pozitivní růst	Poměrná účinnost	
10 <sup>-5</sup>	+++++	5 / 5 = 1,0	
10 <sup>-6</sup>	+++00	3 / 5 = 0,6	1,6 / 2 = 0,8
10 <sup>-7</sup>	++000	2 / 5 = 0,4	1,0 / 2 = 0,5
10 <sup>-8</sup>	+ + 0 0 0	2 / 5 = 0,4	0,8 / 2 = 0,4
10 <sup>-9</sup>	+ 0 0 0 0	1 / 5 = 0,2	0,6 / 2 = 0,3
			<b>2</b>

$$ID_{50} = 5 + 2$$

$$ID_{50} = 7 \Rightarrow \text{o.k.}$$

## Vedení dokumentace o kontrole kvality

- předvýrobní fáze
- průběh výroby a testování
- skladování
- (transport)
- (konečná spotřeba)
- dokumentace excesů !!!
- dokumentace nápravných procesů



FK-703-01-05/03/1			
<b>Pracovní list výstupní kontroly</b>			
<b>Agar s kvasničným extraktem</b>			Číslo protokolu o zkouškách živých gůd:
Datum zahájení zkoušky:	10.8.2004	Sarže: Expirace	
Cíle vzorku:	Vizuální kontrola		
	Barva		
	Vlhkost		
	Konzistence		
Změřené hodnoty			
	pH [1]		
	Výška agarové vrstvy [mm]		
	Objem [ml]		
Kontrola kvality Inkubace při 37 °C 24 hod.			
	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	CCM 3954
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	CCM 3953
Kontrola sterility			
		Sterilita	Kontaminace
	Inkubace při 35 +/- 2 °C po 24 hod. Pokojová teplota po 7 dnech		
Za správnost pracovního listu výstupní kontroly odpovídá:		Pracovní list výstupní kontroly schválil:	
Datum ukončení zkoušky:			

## Náklady na kontrolu kvality I.

- **hotová média**
  - k přípravě kontroly
  - ke kontrole
- **spotřební materiál, reagentie,...**
  - hemokultivační lahvičky
  - referenční kmeny
  - zkumavky, jehly, pipety
- **mzdové náklady**
  - VŠ + SŠ
  - metrolog

## Náklady na kontrolu kvality II.

- **přístrojové vybavení**
  - pH-metr, teploměry, hustoměr (validace)
  - aseptický box, termostaty (na různé teploty)
  - mikroskop, počítač, ...
- **čas**
  - pracovní
  - technologický
  - administrativní
- **likvidace biologického odpadu**
  - autokláv, bioindikátory
- **mytí nástrojů a pomůcek**

## Náklady na kontrolu kvality III.

### Parametry 3 kalkulací:

- 80 000 PM/rok
- 160 000 PM/rok
- 240 000 PM/rok
  
- 50 týdnů, 2 rozplnění/týden, 15 typů médií
  
- Rozložení typů médií:

1 typ	1x	25 % (KA)
4 typy	4x	10 % (MH, ENDO/MC, Čoko, SB)
5 typů	5x	5 % (ostatní selektivní média)
5 typů	5x	2 % (ostatní selektivní média)
<hr/>		
15 typů celkem		



... děkuji za pozornost ...



---

Celá prezentace je k dispozici na <http://www.trios.cz> => sekce **Přednášky**