

ОБЩИ ИНСТРУКЦИИ ЗА УПОТРЕБА

Готови за употреба и частично готови среди

Този документ предоставя информация за структурата на документите **Инструкции за употреба** и съдържа допълнителна информация относно употребата на готовите за употреба и частично готови среди на **BD**.

Непредоставената в отделните документи Инструкции за употреба информация е дадена тук в текстовите прозорци.

Горният колонтитул на страница 1 във всички документи съдържа знака **СЕ**, ако продукта е за **IVD** съгласно европейската ИВД директива.¹ Също така са изписани **номера и версията на документа** (например **РА-123456.01** за среди в чашки и **ВА-123456.01** за среди в шишенца), както и **датата на редакция** (месец и година). Номера и версията на документа се повтарят в **долния колонтитул** на всяка страница.

Изписва се също и **името на продукта**. Някои документи **Инструкции за употреба** съдържат описания на няколко среди с подобни формули и приложение.

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Посочва се областта на приложение. При употреба за други приложения средите или процедурата трябва да бъде утвърдена от потребителя.

BD Diagnostic Systems не поема отговорност, ако продукта се използва за приложения, микроорганизми или процедури, които не се препоръчват в Инструкциите за употреба.

ПРИНЦИПИ И ОБЯСНЕНИЕ НА ПРОЦЕДУРАТА

В този раздел се посочва принципа на метода ("Микробиологичен метод"). Освен това се предоставя информация за историята и развитието на продукта, принципите на процедурата и функцията на изброените в раздел **РЕАГЕНТИ** съставки.

РЕАГЕНТИ

Този раздел съдържа формулата и рН стойността на продукта.

В таблицата на формулата количествата на съставките [g, mg, µg, mL, IU, U, др.] са посочени само веднъж и по-нататък се посочват само при промяна. По-долу е посочен **пример**.

BD CHROMagar O157

Формула* на литър пречистена вода

Хромопептон	22,0 g	
Натриев хлорид	5,0	← количество в [g]
Калиев телурит	2,5 mg	
Цефиксим	0,05	← количество в [g]
Цефсулодин	4,0	← количество в [mg]
Специална хромогенна и селективна смес	1,0 g	
Агар	12,0	← количество в [g]

рН: 7,1 +/- 0,2

ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

Ако съдържа знака **IVD**, готовата за употреба или частично готова среда на **BD** е за употреба при ин витро диагностика, както е определена в европейската директива Устройства за ин витро диагностика.¹ Те могат да се използват също и в други сфери на микробиологията, както е посочено за съответния продукт. Тези продукти са предназначени само за професионална употреба и трябва да се използват само от квалифициран или обучен персонал. Те не трябва да се използват за самотестуване от пациенти.

Ако са отбелязани “За лабораторна употреба”, тези продукти са предназначени за употреба само в сферата на промишлена или обща микробиология, биотехнология, или обща хигиена и не трябва да се използват за обработка на човешки клинични материали.

Не използвайте продукт, ако той показва признаци на микробно замърсяване, обезцветяване, изсушаване, пукнатини или други признаци на увреждане.

Спазвайте асептичните манипулации за материали и продукта преди, по време и след употреба.

Биологическа и химическа безопасност на продукта

Този раздел може да съдържа също и информация за специфичните биологични и/или химически рискове, обозначени със съответните символи, заедно със съответните R (риск)- и S (безопасност)-фрази.²

Относно рисковете, произлизащи от употребен животински материал, **BD** се задължава такива материали да са с източник главно от Австралия Нова Зеландия и САЩ. Някоя от тези страни не е докладвала за случаи на BSE (гъбообразна енцефалопатия по говедата) при местния едър рогат добитък.

BD използва като източник за животински материали и други страни [например Аржентина, Бразилия, Колумбия, Мексико, Южна Африка и Уругвай]. Нито една от тези страни не е докладвала за случаи на BSE при местния едър рогат добитък.

Биорискове, произтичащи от култивирани в микробиологична среда материали и микроорганизми

Спазвайте установените предпазни мерки срещу микробиологични рискове. Материалите и културите от микроорганизми трябва да се обработват в съответствие с местните директиви и закони за биорискове. Съгласно европейска директива 2000/54/ЕС повечето бактериални и гъбични патогени са включени в рискова група 2. Рискова група 3** бе създадена за включване на *Salmonella Typhi*, ентерохеморагични *Escherichia coli* (EHEC; известни също като STEC = произвеждащи Шига токсин *E. coli*), *Shigella dysenteriae* (тип 1) и някои други бактерии и гъбички. От другите бактериални и гъбични патогени в рискова група 3 са включени всички видове *Brucella* spp., *Mycobacterium tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. ulcerans*, и *Histoplasma capsulatum*. За подробности вижте Анекс III към Директива 2000/54/ЕС.³ Непосредствения достъп до тази и други европейски директиви е чрез уебстраницата www.europa.eu/index.htm.

Изхвърляне на продукт

След употреба и преди изхвърляне контейнерите за материали и всички замърсени материали, включително използвана културална среда и замърсени контейнери за култури, трябва да бъдат подложени на автоклавна обработка за 20 до 30 минути при 121°C или по-висока температура (ако трябва да се стерилизират по-големи обеми от изхвърлени материали), или да се изгорят в инсинератор според утвърдените процедури.

СЪХРАНЕНИЕ И СРОК НА ГОДНОСТ

Готовите за употреба среди в чашки на **BD** трябва да се съхраняват при +2 до +8°C. Средите в шишенца и запечатаните предметни стъкла трябва да се съхраняват при същите или различни температури на съхранение.

Освен в документа **Инструкции за употреба**, температурата на съхранение е посочена върху етикета на опаковката или кутията на продукта.

Не допускайте замразяване и прегряване.

Замразяването може да доведе до пълно разрушаване на агар геловите или появата на отлагания в течните среди. По-дългия период на съхранение при превишаващи посочените температури на съхранение може да доведе до увреждане на съставките на средите. Това се отнася особено за селективните агенти, като антимицробни агенти. Прекалената влажност в резултат на воден конденз може да се развие след последователни екстремни температурни промени (например от 2°C до 25°C и обратно до 2°C) при всички твърди среди. Излишната влажност при средите в чашки трябва да бъде премахната преди инокулиране, например чрез поставянето им с приоткрехнати капаци в чист инкубатор при температура от 30 до 37°C за не повече от час. Не изсушавайте средата! Времето на непосредствено излагане зависи от влажността на въздуха в инкубатора.

Съхранението на отворени опаковки също е посочено. Посоченият срок на съхранение за отворени комплекти от среди в чашки се отнася за съхраняване в хладилник и в чисто място.

Необходимо е потребителя да избягва замърсяване по време на съхранение, например чрез опаковане на чашките в чисти найлонови торбички.

При съхраняване на среди в шишенца от отворени опаковки се спазва посочения върху етикета на опаковката и върху шишенцата или ампулите срок на съхранение до отварянето им.

Всички готови за употреба или частично готови среди трябва да се съхраняват на тъмно.

При излагане на изкуствена, слънчева или ултравиолетова светлина за по-дълго време функционирането на всички среди може да се влоши. Някои среди, като хромогенни среди, Endo Agar и други, са особено чувствителни към силно осветяване преди и по време на инкубация.

Всички готови за употреба или частично готови среди на **BD** могат да бъдат използвани до изтичането на **срока на годност** и инкубирани според препоръчаните инкубационни периоди.

Примерно, това включва инокулиране на микобактериална среда в деня на изтичане на нейния срок на годност, последвано от четири до шест седмици на инкубация. Избягвайте изсушаване на средата по време на инкубация.

Датата на изтичане на срока на годност (символ на пясъчен часовник) е посочена върху отделните контейнери и върху етикета на опаковката. За всички продукти е използван формата Година-Месец-Ден, например 2004-06-09 означава 9 юни 2004 г.

ПОТРЕБИТЕЛСКИ КАЧЕСТВЕН КОНТРОЛ

Потребителят трябва да следва посочените в **Инструкции за употреба** процедури по качествен контрол. Посочените там тестови щамове обикновено, но не винаги, отговарят на използваните в процедурите по качествен контрол щамове при промишлено тестване на производителя, които могат да включват допълнителни контролни щамове. Най-често се използват щамове от Американската колекция на типови култури (= ATTC, www.atcc.org), но се използват също и щамове от европейски колекции, например Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (= DSM; www.dsmz.de), или Национална колекция на типови култури (= NCTC; www.hpacultures.org.uk).

Моля отнасяйте се към Сертификата за анализ на съответната продуктова партида, който посочва актуалните критерии на тестовия щам и използваните за производството на партида резултати.

Процедурите за провеждане на микробиологичен функционален тест могат да зависят от типа на средата и следвания метод.

Винаги използвайте прясни суспензии от тествания щам, приготвени от нощни култури в съответна течна среда (например Tryptic или **Trypticase** Soy Broth за аероби и Schaedler Broth with hemin and vitamin K за анаероби). Като алтернатива могат да се използват прясни суспензии, приготвени от нощни култури от среди в чашки. Времето за инкубиране на предкултурите трябва да бъде удължено, ако тествания щам расте бавно.

За **тестуване на хранителния капацитет на среда в чашка** съгласно стандарта M22 на CLSI, разреждете инокулатната суспензия до осигуряване на 1 до 2×10^4 CFU на чашка.⁴ Ако това не осигури изолирани колонии, трябва да се използва десеткратно по-лек инокулат. В съответствие с DIN EN 12322, възможностите за растеж се проверяват с 100 до 1000 CFU или достатъчно количество CFU за осигуряване на изолирани колонии чрез подходящи техники за посяване на чашки.⁵ Ако щамове се инокулират чрез техника на количествено посяване в чашки, обикновено 50 до 500 CFU са достатъчни за получаване на преброим брой колонии. Следвайки указанията на USP и EP, трябва да се използват 10 до 100 CFU на чашка (или контейнер).^{6,7}

За **тестуване на инхибиторните възможности на селективна среда в чашка** съгласно CLSI M22, при инокулиране трябва да се използват 1 до 2×10^5 CFU на чашка и около 10^4 или повече CFU според DIN EN 12322.^{4,5} Прекалено високи инокуланти на нежелани щамове могат да "претоварят" средата и да доведат до "пробив" на растежа. За сравнение винаги включвайте референтна за растеж среда, която

трябва да бъде неселективна среда, осигуряваща оптимален растеж на всички тествани щамове. За тази цел са подходящи средите Columbia Agar with 5% Sheep Blood за аеробни щамове, Chocolate Agar за чувствителни щамове (като *Neisseria gonorrhoeae*), Schaedler Agar with Vitamin K and 5% Sheep Blood за анаероби и Sabouraud Glucose Agar за гъбички. При количествено тестване на растежа на “желани” щамове в тестовата среда трябва да е поне 70% от този в референтната среда. В селективна среда растежа на “нежелани” щамове трябва да бъде частично до изцяло инхибиран. Степента на инхибиране зависи от средата и щамовете, но растежа обикновено се намалява с 10^3 до 10^4 (или повече) по сравнение с растежа върху неселективна растежна референтна среда.

За **тестване на растежни характеристики на среда в ампули или шишенца** се използват сравними методи. По-малките пробирки и ампули трябва да се инокулират с 10^5 cfu съгласно стандарта на CLSI M22.⁴ Процедурите EP, USP и DIN EN 12322 изискват същото количество инокулат, както е посочен по-горе за среди в чашки.⁵⁻⁷ Ампулите и шишенцата с обем над 10 mL трябва първо да бъдат разделени на количества от 5 или 10 mL в стерилни пробирки и тествани по същия начин.

Инкубирайте и инспектирайте инокулираните среди както е описано за съответния продукт.

Определете **pH** потенциометрично при стайна температура (25° C) за съответствие с посочените за продукта стойности. Посочения в документа **Инструкции за употреба** диапазон на pH е този, определен след производство на средата. Той може леко да се различава по време на срока на годност и да зависи от използваната електродна система.

Стерилността на продукта може да бъде проверена от потребителя чрез инкубиране на няколко чашки (или контейнери, например шишенца) при подходяща инкубационна температура (например 28 до 35°C) за 5 до 7 дни, или както е подходящо за процедурите, които трябва да бъдат спазени.^{6,7}

Течните среди с естествена мътност трябва да бъдат повторно посяти в подходяща твърда среда (например чашки с **Trypticase Soy Agar**) след инкубиране за определяне на стерилността. При наличие на въпроси може да е от значение Грам оцветяване и микроскопия на средата.

ПРОЦЕДУРА

В **Предоставяни материали** се посочват средгје и типа на контейнера. Повечето готови за употреба среди в чашки на **BD** се доставят в **BD Stacker** 90 mm чинийки, подходящи за фиксиране с цел минимизиране на риска от плъзгащи се комплекти. Определени готови за употреба среди в чашки на **BD** се доставят в различни типове чинийки, като разделени чинийки (=двойни чинийки), контактни чинийки, 150 mm чинийки или квадратни чинийки, в зависимост от приложението.

Готовите за употреба или частично готови среди в шишенца или ампули на **BD** са налични с различни размери, обем на пълнене и с различни начини на затваряне, в зависимост от тяхната употреба и приложение.

Тук се предоставя информация за микробиологичното състояние на продукта:

Средите в чашки, запечатаните предметни стъкла и определени среди в шишенца или ампули са асептично напълнени; те са “микробиологично проверени”. За тези среди стандарта DIN EN 12322 допуска степен на замърсяване $\leq 5\%$.⁵ Въпреки това, вътрешните критерии за производство са по-строги.

Бутилираните среди, стерилизирани във външния им контейнер, са обозначени със символа “стерилен”, заедно със символа “термометър” (за “стерилизирани в автоклав”). За тези среди се прилага критерия за стерилни продукти съгласно ЕР.⁶

В **Непредоставяни материали** се посочва необходимото специално оборудване за провеждане на теста. Обичайни материали, като примки за инокулиране, разпръскватели, пипети, инкубатори и др. не са посочени тук, тъй като те са универсални за употреба във всяка микробиологична лаборатория.

Във **Видове материали** са посочени материала(ите), които да бъдат използвани за специфичната среда. Ако е необходимо, в **Събиране и транспорт** са посочени специалните изисквания за събиране и транспортиране на материали.

Материалите трябва да се събират и транспортират по подходящ начин, с използване на подходяща транспортна среда за предотвратяване на изсушаване, прекомерно излагане на кислород, или свръхрастеж на симбиозни организми. От значение също е и времето от момента на събиране до обработката на материалите в лаборатория, което трябва да е възможно най-кратко. За подробности относно събирането и транспортните методи за специфични патогени се отнасяйте към съответните отправки.⁸

В **Методика на тестване** се предоставя обща и специфична информация за инокулирането в специфична среда и, ако е необходимо, използването на допълнителна среда.

Инокулиране на среди

Добра лабораторна практика в микробиологията е инокулирането на среди с материал да се извършва чрез посяване за изолиране, прилагайки три стъпки на посяване за всяка чашка с помощта на примка, повторно стерилизирана преди всяка стъпка. Ако се използват предварително стерилизирани примки, за всяка отделна стъпка на посяване трябва да се използва отделна примка. Ако материалът е култивиран непосредствено от намазка, потрийте намазката върху неголям участък в края; след това направете посевка за изолиране от тази повърхност с примки, прилагайки две стъпки на посяване. Тази техника позволява изолиране на единични колонии от смесени култури. Използването на чисти култури, получени от единични колонии, е задължително за идентифициране и тестване на изолатите за чувствителност.

В този раздел се посочват също инкубационната температура и времето на инкубация.

Добра лабораторна практика е редовната проверка на действителната **температура в инкубаторите**. Температури под и над посочения диапазон могат да доведат до загуба на жизнеспособността на организмите в културата, намаляване на растежа, или невъзпроизводими резултати.

По време на инкубация на готови за употреба среди в чашки осигурете адекватна **влажност**, особено ако те се инкубират за удължен период от

време. В такива случаи не трябва да се използват инкубатори с въздушна циркулация, тъй като средата може да бъде значително изсушена, особено когато влажността на въздуха в лабораторията е ниска. Чашките с култури от микроорганизми, адаптирани към влажни околни условия, например *Legionella*, трябва да бъдат инкубирани в камери с овлажняване или банки. За намаляване на изпаряването чашките могат да бъдат запечатани с адхезивна лента. Въпреки това, възможен е минимален газообмен.

Това се отнася и за средите в тръбички: завинтващите се капачета трябва винаги да са леко разхлабени по време на инкубация.

В раздела **Резултати** се предоставя информация за появата на организмите в специфична среда. При среда за изолиране и растеж за общи цели тази специфична информация не може да се предостави за всички организми, способни да растат в тази среда. Необходима е справка със съответните отправки.⁹

Специфична информация се предоставя евентуално в **Изчисляване и интерпретиране на резултати**. Този раздел се включва, ако диагнозата зависи от количеството патогени в материала. Примерно, това е така за среда като CLED Agar, използвана за преброяване на бактерии в урина.

РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ И ОГРАНИЧЕНИЯ НА ПРОЦЕДУРАТА

Дискутира се функционирането на средата и, ако е приложимо, типовете организми, които могат да бъдат изолирани в дадена среда, заедно с доказателствени източници. За най-нови или неотдавна представени среди могат да бъдат включени резултати от оценките за функционалност.

Трябва да се подчертае, че отделна среда много рядко е способна да открие всички организми с потенциална значимост в материал или образец. Също така, възможно е съществуването на единични щамове в рамките на микробиологична популация, които не израстват правилно в определена среда, дори ако средата е подходяща за откриване на повечето щамове от този вид. Следователно, за повечето материали и образци се инокулират едновременно две или три различни среди, или неселективна среда се комбинира с една или две селективни среди, или се използват две селективни среди с различна степен на селективност.

В раздела се посочват също специфичните известни **ограничения на приложението** на средата.

За повечето среди са необходими по-нататъшни тестове за получаване на окончателно идентифициране на изолираните организми.

СПРАВОЧНА ЛИТЕРАТУРА

Тук се посочва цитираната в документа литература.

ОПАКОВКА/СЪДЪРЖАНИЕ

Тук се посочват наличните **каталожни номера, размери на опаковка** и, ако е приложимо, различните формати.

ДОПЪЛНИТЕЛНА ИНФОРМАЦИЯ

Тук се предоставя допълнителна информация, включително адрес на производителя (символ за "завод"). Накрая се посочват използваните в специфичните документи търговски марки.

СПРАВОЧНА ЛИТЕРАТУРА, ЦИТИРАНА В ТОЗИ ДОКУМЕНТ ОБЩИ ИНСТРУКЦИИ ЗА УПОТРЕБА

1. Directive 98/79/EC of the European Parliament and of the Council of 27 October 1998 on in vitro diagnostic medical devices. Official Journal L 331 , 07.12.1998, p. 0001 - 0037
2. Directive 67/548/EEC of the European Parliament and of the Council of 27 June 1967 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions relating to the classification, packaging and labelling of dangerous substances Official Journal P 196, 16.08.1967, p. 0001 – 0098.
3. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 98/391/EEC). Official Journal L 262, 17.10.2000, p. 0021-0045.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, formerly NCCLS). Standard M22. Quality assurance for commercially prepared microbiological culture media. Wayne, PA, USA. *Search for latest version at www.clsi.org*
5. DIN EN 12322. 1999. Culture media for microbiology – performance criteria for culture media. Beuth Verlag Berlin.
6. Council of Europe. European Pharmacopoeia. European Pharmacopoeia Secretariat. Strasbourg/France. *Search for latest version at www.pheur.org*
7. U.S. Pharmacopeial Convention. The U.S. Pharmacopeia /The national formulary. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville, Md. *Search for latest version at www.uspnf.com*
8. Thomson, R.B. 2007. Specimen collection, transport, and processing: bacteriology. *In:* Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M.L. Landry, and M. A. Pfaller (ed.). Manual of clinical microbiology, 9th ed. American Society for Microbiology, ASM Press, Washington, D.C.
9. Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M.L. Landry, and M. A. Pfaller (ed.). 2007. Manual of clinical microbiology, 9th ed. American Society for Microbiology, ASM Press, Washington, D.C.

CHROMagar is a trademark of Dr. A. Rambach.

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2009 BD

© 2009 Becton, Dickinson and Company