

ÜLDINE KASUTUSJUHEND KASUTUSVALMID JA OSALISELT LÕPULEVIIDUD SÖÖTMED

Käesolevas dokumendis on informatsiooni **Kasutusjuhendi** dokumentide struktuurist ja siin sisaldub täiendavat informatsiooni **BD™** kasutusvalmite ja osaliselt lõpuleviidud söötmete kohta.

Lisainformatsioon, mida ei leidu üksikutes Kasutusjuhendi dokumentides, on antud siin tekstikastides.

Kõigi dokumentide 1. lehekülje päistes on CE märgis, kui toode on IVD vastavalt Euroopa IVD direktiivile.¹ Samuti on toodud **dokumendi number ja versioon** (nt PA-123456.01 plaatidel söötmete puhul ja BA-123456.01 pudelites söötmete puhul) ning **muutmise kuupäev** (kuu ja aasta). Iga lehekülje jaluses on korratud dokumendi numbrit ja versiooni.

Järgmiseks on toodud **toote nimi**. Mõnedes **Kasutusjuhendite** dokumentides on mitmete söötmete kirjeldusi sarnaste formuleeringute ja rakendusalaadega.

SIHTOTSTARVE

Näidatud on rakendusala. Teistel rakendusalaadel kasutamisel peab kasutaja söötme või protseduuri valideerima.

BD Diagnostic Systems ei võta endale mingeid kohustusi, kui toodet kasutatakse rakendusalaadel, mikroorganismidel või protseduurides, mida ei ole Kasutusjuhendis soovitatud.

PROTSEDUURI PRINTSIIBID JA KIRJELDUS

Selles osas näidatakse ära meetodi printsiibid („mikrobioloogiline meetod“). Lisaks on selgitatud söötme saamislugu ja väljatöötamist, protseduuri printsiipe ja **REAGENTIDE** osas loetletud komponentide funktsiooni.

REAGENDID

Selles osas leidub toote retsept ja pH tase.

Retsepti tabelis on komponentide [g, mg, µg, ml, IU, U, etc] koguseid nimetatud ainult üks kord ja hiljem ainult juhul, kui need on muutunud. Allpool on toodud üks näide:

BD CHROMagar™ O157

Retsept* ühe liitri puhastatud vee kohta:

Kromopeptoon	22,0 g	
Naatriumkloriid	5,0	← kogus [g]
Kaaliumtelluriit	2,5 mg	
Tsefiksiim	0.05	← kogus [mg]
Tsefsulodiin	4.0	← kogus [mg]
Spetsiaalne kromogeenne ja selektiivne segu	1.0 g	
Agar	12.0	← kogus [g]
pH: 7,1 +/- 0,2		

ETTEVAATUST

Kui leidub märgistus {}, siis **BD** kasutusvalmid või osaliselt lõpuleviidud söötmed on *in vitro* diagnostiliseks kasutamiseks, vastavalt Euroopa In Vitro Diagnostiliste Seadmete Direktiivile (*European In Vitro Diagnostic Device Directive*).¹ Neid võib kasutada ka muudel mikrobioloogia erialadel, nagu vastava toode puhul ette nähtud.

Need tooted on mõeldud ainult professionaalseks kasutamiseks vastava hariduse või väljaõppega spetsialistide poolt. Neid ei tohi patsiendid kasutada enda testimiseks.

Kui sildil leidub märg "For Laboratory Use" (laboratoorseks kasutamiseks), on need tooted mõeldud ainult tööstuslikuks või üldiseks mikrobioloogiliseks, biotehnoloogiliseks või üldhügieeni alaseks kasutamiseks ja neid ei tohi kasutada inimeste kliiniliste proovide töötlemiseks.

Toodet, millel on nähtavad mikroobse saastumise, värvuse muutumise, kuivamise, mõranemise või muud kahjustumise tunnused, ei tohi kasutada.

Järgida toote ja proovide aseptilise käsitlemise nõudeid enne kasutamist, selle ajal ja peale kasutamist.

Toote bioloogiline ja keemiline ohutus

Selles osas võib leida informatsiooni spetsiifilistest bioloogilistest või keemilistest ohtudest, mida on märgitud asjakohaste sümbolitega, üheskoos asjakohaste R (riski) ja S (ohutuse) fraasidega.²

Kasutatud loomsetest materjalidest tulenevate riskidega seoses on **BD** kohustunud kasutama ainult Austraaliast, Uus-Meremaalt ja USA-st pärinevaid selliseid materjale. Üheski neist riikidest ei ole teatatud BSE (veiste spongiformse entsefalopaatia) juhtumeid kohalikel kariloomadel. **BD** hangib loomse päritoluga materjale ka muudest riikidest [nt Argentiina, Brasiilia, Kolumbia, Mehhiko, Lõuna Aafrika Vabariik ja Uruguai]. Üheski neist riikidest ei ole teatatud BSE juhtumeid kohalikel kariloomadel.

Mikrobioloogilistel söötmetel kultiveeritud proovidest ja mikroorganismidest tulenev bioloogiline oht

Järgida sätestatud ettevaatusabinõusid mikrobioloogiliste ohtude vastu. Mikroorganismide proove ja kultuure tuleb käsitleda vastavalt kohalikele bioloogilist ohtu puudutavatele juhtnõuadele ja seadusandlusele. Vastavalt Euroopa direktiivile 2000/54/EÜ, loetakse enamik bakteriaal- ja seenpatogeene riskigruppi 2. Riskigrupp 3** loodi hõlmamaks *Salmonella Typhi*, enterohemorraagilist *Escherichia coli* (EHEC; nimetatud ka STEC = Shiga toksiini-tekiv *E. coli*), *Shigella dysenteriae* (tüüp 1) ja mitmeid muid baktereid ja seeni. Mitmete muude bakteriaalsete ja seenpatogeenide hulgas kuuluvad kõik *Brucella* spp., *Mycobacterium tuberculosis*'e, *M. bovis*'e, *M. africanum*'i, *M. ulcerans*'i ja *Histoplasma capsulatum*'i riskigruppi 3. Täpsemaid andmeid leidub Direktiivi 2000/54/EÜ lisas III.³ Seda ja muid Euroopa Liidu direktiive saab otse lugeda Internetileheküljel www.europa.eu/index.htm

Toote äraviskamine

Peale kasutamist ja enne äraviskamist tuleb proovianumaid ja kõiki saastunud materjale, sealhulgas kasutatud kultuursöötmeid ja saastunud kultuuride mahuteid autoklaavida 20 kuni 30 minutit temperatuuril 121 °C või enam (kui steriliseerida tuleb suur kogus äraviskatavaid materjale) või põletada valideeritud protseduuridega.

SÄILITAMINE JA SÄILIVUSAEG

BD kasutusvalmid plaatidel söötmed tuleb ladustada temperatuuril +2 kuni +8 °C. Söötmeid pudelites ja klaasidel tuleb säilitada samadel või erinevatel säilitustemperatuuridel.

Lisaks **Kasutusjuhendi** dokumendile on säilitustemperatuur märgitud toote pakendi sildile või karbile.

Vältida külmutamist ja kuumenemist.

Külmutamise tulemusel võivad agargeelid täielikult laguneda või vedelsöötmed sadestuda. Pikaajaline temperatuur, mis ületab näidatud säilitamise temperatuuri, võib viia söötme komponentide riknemiseni. See kehtib eriti selektiivsete söötmete puhul, nt antimikroobsed preparaadid. Peale järske järjekuseid temperatuurimuutusi (nt temperatuurilt 2 °C temperatuurile 25 °C ja tagasi 2 °C) võib kõigil tahketel söötmetel tekkida kondensaatveest liigne niiskus. Liigse niiskusega plaatidel söötmeid tuleb enne inokuleerimist kuivatada, nt asetades nad lahtiste korkidega puhtasse inkubaatorisse temperatuuril 30 kuni 37 °C mitte kauemaks kui üheks tunniks. Söötmeid ei tohi kuivatada! Täpne kuivatusaeg sõltub õhuniiskusest inkubaatoris.

Näidatud on ka **avatud pakendi ladustamine**. Märgitud avatud söötmeplaatide virnade säilitamine viitab külmutuskapis ladustamisele puhtas kohas.

Kasutaja peab ladustamise ajal vältima saastumist, nt pakkides plaadid puhastesse kilekottidesse.

Avatud pakendites pudelsöötmete säilitamisel kehtib pakendi sildil ja pudelitel või ampullidel antud säilivusaeg, seda seni, kui neid ei ole avatud.

Kõiki kasutusvalmeid või osaliselt lõpuleviidud söötmeid tuleb ladustada pimedas.

Kõigi söötmete resultatiivsus võib kahaneda, kui neid allutada kunstvalgusele, päikesevalgusele või ultravioletvalgusele pikema aja vältel. Mitmed söötmed, nt kromogeensed söötmed, endoagar ja muud on eriti tundlikud tugevale valgustusele inkubeerimise ajal ja enne seda.

Kõiki **BD** kasutusvalmeid või osaliselt lõpuleviidud söötmeid võib kasutada kuni viimase kõlblikkuskuupäevani ja inkubeerida soovitatud inkubeerimisaegade jooksul.

Näiteks kuulub sinna hulka mükobakteriaalse söötme inokuleerimine selle viimasel kõlblikkuskuupäeval, millele järgneb neli kuni kuus nädalat inkubeerimist. Inkubeerimise ajal vältida söötme kuivamist. Viimane kõlblikkuskuupäev (liivakella sümbol) on märgitud üksikutele mahutitele ja pakendi sildile. Kõigil toodetel on kasutatud aasta-kuu-päev formaati, nt 2004-06-09 tähendab 9. juuni 2004.

KASUTAJA KVALITEEDIKONTROLL

Kasutaja peab järgima **Kasutusjuhendis** näidatud kvaliteedikontrolli protseduure. Seal nimetatud testtüved vastavad enamasti, kuid mitte alati, tüvedele, mida kasutatakse tootja väljastustestide kvaliteedikontrolli protseduurides, millesse võivad kuuluda ka muud täiendavad rasked tüved. Enamasti kasutatakse Ameerika tüübikultuurikollektsiooni (*American Type Culture Collection* = ATCC™; www.atcc.org) tüvesid, kuid on kasutatud ka Euroopa kollektsioonide tüvesid, nt *Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen* (= DSM; www.dsmz.de) või *National Collection of Type Cultures* (= NCTC; www.hpacultures.org.uk).

Lugeda vastava toote partii **Analüüsi Sertifikaati**, kus on märgitud tegelik testide tüve patarei ja partii väljastamisel kasutatud tulemused.

Mikrobioloogilise resultatiivsuse testi teostamise protseduurid võivad sõltuda söötme tüübist ja järgitud meetodist.

Alati kasutada värskete testi tüvede suspensioone, mis on valmistatud üleöö kultuuridest sobival vedelsöötmetel (nt Tryptic või **Trypticase**™ sojapuljong aeroobsetele ja Schaedlet puljong hemiini ja vitamiin K-ga anaeroobsetele. Samuti võib kasutada värsked suspensioone, mis on valmistatud üleöö kultuuridelt plaatsöötmetel. Kui testi tüvi kasvab aeglaselt, tuleb eelkultuuride inkubeerimisaegu pikendada.

Plaatsöötmete toitevõime testimiseks vastavalt CLSI standardile M22 lahjendada inokulaadi suspensiooni, saamaks 10^4 CFU plaadi kohta.⁴ Kui sellega ei saavutata isoleeritud kolooniaid, tuleb kasutada kümme korda kergemat inokulaati. Vastavalt DIN EN 12322-le testitakse kasvu edendavaid omadusi 100 kuni 1000 CFU või piisava koguse CFU-ga, saavutamaks isoleeritud kolooniaid asjakohase triibuplaadi tehnikaga.⁵ Kui tüvesid inokuleeritakse kvantitatiivse plaatimistehnikaga, on enamasti 50 kuni 500 CFU plaadi kohta sobiv loetava arvu kolooniate saavutamiseks. Vastavalt USP ja EP juhiste tuleb kasutada 10 kuni 100 CFU plaadi (või mahuti) kohta.^{6,7}

Selektiivse plaatsöötme inhibeeriva võimsuse testimiseks vastavalt CLSI M22 tuleb inokuleerimiseks kasutada 1 kuni 2×10^5 CFU plaadi kohta ja ligikaudu 10^4 või enam CFU vastavalt DIN EN 12322.^{4,5} Soovimatute tüvede väga kõrged inokulaadi tasemed võivad söötme "üle koormata", viies "lābimurde" kasvuni.

Võrdluseks lisada alati kasvu võrdlussööde, mis peaks olema mitteselektiivne söode, mis tagab kõigile testi tüvedele optimaalse kasvu. Sellel otstarbel on sobivad aeroobsetele tüvede Columbia agar 5%-lise lambaverega, valivatele tüvedele (nagu *Neisseria gonorrhoeae*) šokolaadi agar, anaeroobsetele Schaedleri agar K-vitamiini ja 5%-lise lambaverega ning seentele Sabouraudi glükoosagar. Kvantitatiivsel testimisel peaks „soovitavate“ tüvede kasv testsöötmetel ulatuma vähemalt 70%-ni võrdlussöötme võrreldes. Selektiivsetel söötmetel tuleb „soovimatute“ tüvede kasvu osaliselt või täielikult inhibeerida. Inhibeerimise määr sõltub söötimest ja tüvedest, kuid kasv väheneb enamasti faktori 10^3 kuni 10^4 (või enama) määral võrreldes mitteselektiivse kasvu võrdlussöötmeaga.

Ampullides või pudelites söötmete kasvu resultatiivsuse testimiseks kasutatakse võrdlevaid meetodeid. Väiksemaid tuube ja ampulle tuleks inokuleerida 10^5 CFU-ga vastavalt CLSI M22 standardile.⁴ EP, USP ja DIN EN 12322 protseduurid nõuavad samu inokulaate kui ülalpool loetletud plaatsöötmetega seoses.⁵⁻⁷ Ampulle või pudeleid täitemahutudega üle 10 ml tuleb esmalt alikvootida 5 või 10 ml kogustes steriilsetesse tuubidesse ja testida samal viisil.

Inokuleeritud söötmeid inkubeerida ja uurida samuti kui vastava toote jaoks kirjeldatud.

pH määrata potentsiomeetriliselt toatemperatuuril (25° C) pidamaks kinni tootele ettenähtud väärtustest. **Kasutusjuhendis** antud pH ulatus on määratud peale söötme tootmist. See võib säilivusaja jooksul veidi varieeruda ja võib sõltuda kasutatavast elektroodsüsteemist.

Toote steriilsust saab kasutaja testida mitme plaadi (või mahuti, nt. pudeli) inkubeerimisega sobival inkubeerimistemperatuuril (nt. 28 kuni 35 °C) 5 kuni 7 päeva jooksul või vastavalt järgitavatele protseduuri nõudmistele.^{6,7}

Loomupäraselt sogaseid vedelsöötmeid tuleb subkultuurida sobivale tahkele söötmele (nt **Trypticase**TM sojaagari plaadid) peale inkubeerimist steriilsuse määramiseks. Samuti võivad küsimuste korral olla kasulikud söötme Gram-värvimised ja mikroskoopia.

PROTSEDUUR

Komplekti kuuluvates materjalides näidatakse sööde ja mahuti tüüp. Enamik **BD** kasutusvalmistest plaatsöötmetest tarnitakse **BD Stacker**TM 90 mm alustel, mis on konstrueeritud omavahel lukustuvaiks, et minimeerida virnade libisemise ohtu. Teatud **BD** kasutusvalmid plaatsöötmed tarnitakse erinevat tüüpi alustel, näiteks jagatud alustel (kaksikplaatidel), kontaktplaatidel, 150 mm tassidel või ruudukujulistel plaatidel, sõltuvalt rakendusala. BD kasutusvalmid või osaliselt lõpuleviidud söötmed on saadaval mitmetes erinevates suurustes, täitemahtudes ja erinevate sulguritega sõltuvalt nende kasutusest ja rakendusala. Siin on antud toote mikrobioloogilise seisundi kohta informatsiooni:

Plaatsöötmed, klaasid ja teatud söötmed pudelites või ampullides on täidetud aseptiliselt; nad on „mikrobioloogiliselt kontrollitud“. Nende söötmete puhul on vastavalt DIN EN 12322 standardile lubatav saastumismäär $\leq 5\%$.⁵ Sellegipoolest on sisemised väljastuskriteeriumid rangemad. Söötmed pudelites, mis on nende lõplikus mahutis steriliseeritud, markeeritakse „steriilse“ sümboliga, koos „termomeetri“ sümboliga (tähistab „steriliseeritud autoklaaviga“). Nende söötmete puhul kehtivad steriilsete toodete kriteeriumid vastavalt EP-le.⁶

Komplekti mittekuuluvate materjalide osas loetletakse erivarustust, mis on vajalik testi teostamiseks. Siin ei ole loetletud tavapäraseid materjale, nt inokuleerimisaasu, levitajaid, pipette, inkubaatoreid jne, kuna need on mikrobioloogia laboratooriumis üldiselt hädavajalikud.

Proovide tüüpides on märgitud antud söötmega kasutatavad proovid. Vajadusel on proovide kogumise ja transpordi erinõudmised toodud osas **Kogumine ja transport**.

Proovid tuleb asjakohaselt koguda ja transportida, kasutades sobivaid transportsöötmeid vältimaks kuivamist, liigset allutamist õhuhapnikule või kommensaalsete organismide ülekasvamist. Samuti on oluline proovide kogumisest nende laboratoorse töötlemiseni kuluv aeg, see peab olema nii lühike kui võimalik. Spetsiifiliste patogeenide kogumise ja transpordi meetodite üksikasju lugeda vastavast viitematerjalist.⁸

Testi protseduuri osas on toodud spetsiifiliste patogeenide inokuleerimise üldine ja spetsiifiline informatsioon ja vajadusel kirjeldatakse täiendavate söötmete kasutamist.

Söötme inokulatsioon

Mikrobioloogilise laboratooriumi heade tavade hulka kuulub söötme prooviga inokuleerimise teostamine isolaadi triibutamise, rakendades igal plaadil kolme triibutamisetappi ja resteriliseerides külviaasa enne igat triibutamisetappi. Kasutades eelsteriliseeritud külviaasu, tuleb igal triibutamisetapil kasutada eraldi aasa. Kui materjali kultuuritakse otse tupsutilt, veeretada tupsutit serval väiksel pinnal, seepeale triibutada külviaasadega sellelt inokuleeritud alalt, rakendades kahte triibutamisetappi. See tehnika võimaldab isoleerida segunenud kultuuride üksikuid kolooniaid. Üksikutest kolooniast saadud puhtad kultuurid on isolaatide samastamiseks ja vastuvõtlikkuse testimiseks hädavajalikud.

Siin osas on nimetatud ka inkubeerimise temperatuur ja aeg.

Heade laboratoorsete tavade hulka kuulub **inkubaatorite tegeliku temperatuuri** regulaarne kontrollimine. Temperatuurid, mis on ettenähtud ulatusest kõrgemad või madalamad, võivad viia kultuuride organismide elujõulisuse kaotuseni, vähenenud kasvuni või tulemuste saamiseni, mis ei ole korduvteostatavad. Kasutusvalmite plaatsöötmete inkubeerimisel tagada piisav **niiskus**, eriti juhul, kui inkubeerimine kestab pikemat aega. Sellisel juhul ei tohi kasutada tsirkuleeriva õhuga inkubaatoreid, kuna söötmed võivad märkimisväärselt kuivada, eriti kui laboratooriumi õhuniiskustase on madal. Niiske keskkonnaga kohanenud mikroorganismide plaatkultuure, nt *Legionella*, tuleb inkubeerida niisutatavates kambrites või purkides. Aurustumise vähendamiseks võib plaadid sulgeda ka kleeplindiga. Sellegipoolest peab võimaldama minimaalset gaaside vahetumist. See kehtib ka tuubides söötmete kohta: inkubeerimise ajal tuleb pealekeeratavad korgid jätta alati veidi lahti.

Tulemuste osas on toodud informatsioon antud organismide välimuse kohta spetsiifilisel söötmel. Isoleerimise ja kasvusöötmete kohta üldiselt ei ole võimalik anda seda spetsiifilist informatsiooni kõigi antud söötmel kasvada võivate organismide kohta. Lugeda asjakohaseid viitematerjale.⁹

Lõpuks on toodud spetsiifilist informatsiooni osas **Tulemuste kalkuleerimine ja interpreteerimine**. See osa on lisatud, kui diagnoos sõltub proovis leiduvate patogeenide kogusest. Näiteks kehtib see **CLED agarsöötmete kohta, mida kasutatakse uriinis bakterite loendamiseks**.

RESULTATIIVSUSE ANDMED JA PROTSEDUURI PIIRANGUD

Arutletakse söötme resultatiivsust ja vajadusel on antud organismide tüübid, mida saab antud söötmel isoleerida, lisatud on tõendusallikad. Uute või hiljaaegu väljastatud söötmete puhul võivad siin leiduda resultatiivsuse hindamiste tulemused.

Peab rõhutama, et üksik sööde on väga harva piisav kõigi proovis või näidises leiduvate potentsiaalselt oluliste organismide tuvastamiseks. Mikroobses populatsioonis võib samuti esineda üksikuid tüvesid, mis ei kasva korralikult teatud söötmel, kuigi see sööde on sobiv selle liigi enamike muude tüvede tuvastamiseks. Seetõttu inokuleeritakse enamike proovide ja näidiste puhul kaks või kolm erinevat söodet ühekorraga või kombineeritakse mitteselektiivset söodet ühe või kahe selektiivse söötmega või kasutatakse kahte selektiivset söodet erineva selektiivsusega.

Selles osas nimetatakse ka teadaolevaid söötme **rakendamise piiranguid**.

Enamike söötmete puhul on vajalik teostada täiendavaid teste isoleeritud organismide lõpliku samastamise saavutamiseks.

VIITED

Siin on toodud dokumendis viidatud kirjanduse loetelu.

PAKEND/KÄTTESAADAVUS

Siin on nimetatud saadaolevad **kataloogi numbrid**, **pakendite suurused** ja vajadusel erinevad formaadid.

TÄIENDAV INFORMATSIOON

Siin on toodud täiendav informatsioon, sealhulgas tootja aadress (tehase sümbol). Lõpuks on loetletud konkreetsetes dokumendis nimetatud kaubamärgid.

SELLES ÜLDISE KASUTUSJUHENDI DOKUMENDIS OSUNDATUD viitEmaterjalid

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