

ΓΕΝΙΚΕΣ ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

Έτοιμα προς χρήση και μερικώς συμπληρωμένα υλικά καλλιέργειας

Το έγγραφο αυτό παρέχει πληροφορίες σχετικά με τη δομή των εγγράφων **Οδηγιών χρήσης** και περιέχει επιπλέον πληροφορίες σχετικά με τη χρήση των έτοιμων προς χρήση και μερικώς συμπληρωμένων υλικών καλλιέργειας **BD**.

Επιπλέον πληροφορίες που δεν παρέχονται στις επιμέρους έγγραφα Οδηγιών χρήσης δίνονται εδώ στα πλαίσια κειμένου.

Η **επικεφαλίδα** στη σελίδα 1 όλων των εγγράφων περιλαμβάνει τη **σήμανση CE**, εάν το προϊόν είναι **IVD** σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Οδηγία περί *in vitro* διαγνωστικών ιατροτεχνολογικών βοηθημάτων.¹ Επίσης, αναφέρεται ο **αριθμός και η έκδοση του εγγράφου** (π.χ. PA-123456.01 για υλικά καλλιέργειας σε πλάκες και BA-123456.01 για εμφιαλωμένα υλικά καλλιέργειας), καθώς και η **ημερομηνία αναθεώρησης** (μήνας και έτος). Ο αριθμός και η έκδοση του εγγράφου επαναλαμβάνονται στο **υποσέλιδο** κάθε σελίδας.

Κατόπιν, αναφέρεται το **όνομα του προϊόντος**. Μερικά έγγραφα **Οδηγιών χρήσης** περιλαμβάνουν τις περιγραφές διαφόρων υλικών καλλιέργειας με παρόμοιες συνθέσεις και εφαρμογές.

ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ

Υποδεικνύεται το πεδίο εφαρμογής. Εάν χρησιμοποιείται για διαφορετικές εφαρμογές, το υλικό καλλιέργειας ή η διαδικασία πρέπει να επικυρώνεται από το χρήστη.

Η **BD Diagnostic Systems** δεν αναλαμβάνει οποιαδήποτε ευθύνη εάν το προϊόν χρησιμοποιείται για εφαρμογές, μικροοργανισμούς ή διαδικασίες που δε συνιστώνται στην ενότητα **Οδηγίες χρήσης**.

ΑΡΧΕΣ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Στην ενότητα αυτή, υποδεικνύεται η αρχή της μεθόδου ("Μικροβιολογική μέθοδος"). Περαιτέρω, παρέχονται πληροφορίες σχετικά με το ιστορικό και την ανάπτυξη του υλικού καλλιέργειας, τις αρχές της διαδικασίας και τη λειτουργία των συστατικών, όπως παρατίθενται στην ενότητα **ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ**.

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Στην ενότητα αυτή περιλαμβάνονται η σύνθεση και το pH του προϊόντος.

Στον πίνακα σύνθεσης, οι ποσότητες των συστατικών [g, mg, µg, mL, IU, U, κ.λπ.] αναφέρονται μόνο μία φορά και στη συνέχεια μόνον εάν μεταβληθούν. Ένα **παράδειγμα** δίνεται πιο κάτω:

BD CHROMagar O157

Σύνθεση* ανά λίτρο κεκαθαρμένου νερού

Χρωμοπεπτόνη	22,0 g
Χλωριούχο νάτριο	5,0
Τελλουριώδες κάλιο	2,5 mg
Κεφιζίμη	0,05
Cefsulodin	4,0
Ειδικό χρωμογόνο και εκλεκτικό μείγμα	1,0 g
Άγαρ	12,0

← ποσότητα σε [g]

← ποσότητα σε [mg]

← ποσότητα σε [mg]

← ποσότητα σε [g]

pH: 7,1 ± 0,2

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Εάν φέρουν τη σήμανση **IVD**, τα έτοιμα προς χρήση ή μερικώς συμπληρωμένα υλικά καλλιέργειας **BD** προορίζονται για *in vitro* διαγνωστική χρήση, όπως ορίζεται στην Ευρωπαϊκή οδηγία περί *in vitro* διαγνωστικών ιατροτεχνολογικών βοηθημάτων.¹ Είναι δυνατόν επίσης να χρησιμοποιηθούν σε άλλους τομείς της μικροβιολογίας, όπως υποδεικνύεται για το αντίστοιχο προϊόν.

Τα προϊόντα αυτά προορίζονται για επαγγελματική χρήση μόνον και πρέπει να χρησιμοποιούνται αποκλειστικά από εκπαιδευμένο ή καταρτισμένο προσωπικό. Δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται για αυτο-εξέταση από τους ασθενείς.

Εάν φέρουν τη σήμανση “Για εργαστηριακή χρήση”, τα προϊόντα αυτά προορίζονται για χρήση σε βιομηχανική ή γενική μικροβιολογία, βιοτεχνολογία ή γενική υγιεινή μόνον και δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται για επεξεργασία ανθρώπινων κλινικών δειγμάτων.

Μη χρησιμοποιείτε το προϊόν εάν εμφανίζει ενδείξεις μικροβιακής μόλυνσης, αποχρωματισμό, ξηρότητα, ρωγμές ή άλλα σημεία αλλοίωσης.

Εφαρμόζετε άσηπτο χειρισμό των δειγμάτων και του προϊόντος πριν και μετά τη χρήση, καθώς και κατά τη διάρκεια αυτής.

Βιολογική και χημική ασφάλεια του προϊόντος

Η ενότητα αυτή ενδέχεται επίσης να περιέχει πληροφορίες σχετικά με ειδικούς βιολογικούς ή/και χημικούς κινδύνους, οι οποίοι υποδεικνύονται από τα κατάλληλα σύμβολα, σε συνδυασμό με τις κατάλληλες φράσεις R (Risk – Κίνδυνος) και S (Safety - Ασφάλεια).²

Όσον αφορά κινδύνους προερχόμενους από ζωικό υλικό που χρησιμοποιείται, η **BD** δεσμεύεται για την προμήθεια τέτοιου είδους υλικών κυρίως από την Αυστραλία, τη Νέα Ζηλανδία και τις Η.Π.Α. Καμία από τις χώρες αυτές δεν έχει αναφέρει περιπτώσεις BSE (σπογγώδης εγκεφαλοπάθεια των βοοειδών) σε εντόπια βοοειδή. Η **BD** προμηθεύεται επίσης υλικά ζωικής προέλευσης από άλλες χώρες [π.χ. Αργεντινή, Βραζιλία, Κολομβία, Μεξικό, Νότια Αφρική και Ουρουγουάη]. Καμία από αυτές τις άλλες χώρες δεν έχει αναφέρει περιπτώσεις BSE σε εντόπια βοοειδή.

Βιολογικός κίνδυνος προερχόμενος από δείγματα και μικροοργανισμούς, που καλλιεργούνται σε μικροβιολογικά υλικά καλλιέργειας

Τηρείτε τις καθιερωμένες προφυλάξεις από μικροβιολογικούς κινδύνους. Τα δείγματα και οι καλλιέργειες μικροοργανισμών πρέπει να υποβάλλονται σε χειρισμό σύμφωνα με τις κατά τόπους κατευθυντήριες οδηγίες και νομοθεσία περί βιολογικών κινδύνων. Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Οδηγία 2000/54/EK, τα περισσότερα βακτηριδιακά και μυκητιακά παθογόνα συμπεριλαμβάνονται στην ομάδα κινδύνου 2. Η ομάδα κινδύνου 3** έχει δημιουργηθεί για να περιλαμβάνει το *Salmonella* Typhi, την εντεροαιμορραγική *Escherichia coli* (EHEC, αναφερόμενη επίσης ως STEC = *E. coli* παραγωγής τοξίνης τύπου Shiga), το *Shigella dysenteriae* (τύπος 1) και διάφορα άλλα βακτηρίδια και μύκητες. Μεταξύ διαφόρων άλλων βακτηριδιακών και μυκητιακών παθογόνων, όλα τα *Brucella* spp., το *Mycobacterium tuberculosis*, το *M. bovis*, το *M. africanum*, το *M. ulcerans* και το *Histoplasma capsulatum* περιλαμβάνονται στην ομάδα κινδύνου 3. Για λεπτομέρειες, συμβουλευτείτε το Παράρτημα III της Οδηγίας 2000/54/EK.³ Τόσο αυτή όσο και άλλες Ευρωπαϊκές Οδηγίες είναι δυνατό να προσπελαστούν απευθείας μέσω της τοποθεσίας web www.europa.eu/index.htm

Απόρριψη προϊόντος

Μετά τη χρήση και πριν από την απόρριψη, τα δοχεία δείγματος και όλα τα μολυσμένα υλικά, συμπεριλαμβανομένων των χρησιμοποιημένων υλικών καλλιέργειας και των μολυσμένων δοχείων καλλιέργειας, πρέπει να αποστειρώνονται σε αυτόκαυστο επί 20 έως 30 λεπτά στους 121 °C ή σε μεγαλύτερη θερμοκρασία (εάν πρέπει να αποστειρωθούν μεγαλύτεροι όγκοι απορριφθέντων υλικών) ή να αποτεφρωθούν με επικυρωμένες διαδικασίες.

ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΖΩΗΣ

Τα έτοιμα προς χρήση υλικά καλλιέργειας σε πλάκες **BD** πρέπει να φυλάσσονται στους +2 έως +8 °C. Υλικά καλλιέργειας σε φιάλες και εμβάπτιζόμενες αντικειμενοφόρους πλάκες πρέπει να φυλάσσονται στην ίδια ή σε διαφορετικές θερμοκρασίες φύλαξης.

Εκτός από το ειδικό έγγραφο **Οδηγιών χρήσης**, η θερμοκρασία φύλαξης υποδεικνύεται στην ετικέτα της συσκευασίας ή στο κουτί του προϊόντος.

Αποφεύγετε την κατάψυξη και την υπερβολική θέρμανση.

Η κατάψυξη ενδέχεται να έχει ως αποτέλεσμα την πλήρη αλλοίωση των πηκτών άγαρ ή το σχηματισμό ιζημάτων σε υγρά υλικά καλλιέργειας. Θερμοκρασίες που υπερβαίνουν την ενδεικνυόμενη θερμοκρασία φύλαξης για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα ενδέχεται να οδηγήσουν σε αλλοίωση των συστατικών των υλικών καλλιέργειας. Αυτό ισχύει ιδιαίτερα για εκλεκτικούς παράγοντες, όπως οι αντιμικροβιακοί. Ενδέχεται να αναπτυχθεί υπερβολική υγρασία λόγω συμπύκνωσης νερού μετά από ακραίες επακόλουθες μεταβολές της θερμοκρασίας (π.χ. από 2 °C στους 25 °C και πάλι στους 2 °C) σε όλα τα στερεά υλικά καλλιέργειας. Υλικά καλλιέργειας σε πλάκες με υπερβολική υγρασία πρέπει να αποξηραίνονται πριν από τον ενοφθαλμισμό, π.χ. με τοποθέτησή τους με τα καπάκια μισάνοιχτα εντός καθαρού θαλάμου επώασης στους 30 έως 37 °C, το πολύ επί μία ώρα. Μην αποξηραίνετε τα υλικά καλλιέργειας! Ο ακριβής χρόνος έκθεσης εξαρτάται από την υγρασία του αέρα στο θάλαμο επώασης.

Υποδεικνύεται επίσης η **φύλαξη της ανοιγμένης συσκευασίας**. Η φύλαξη των ανοιγμένων στοιβών υλικών καλλιέργειας σε πλάκες που υποδεικνύεται αναφέρεται σε φύλαξη στη συντήρηση του ψυγείου σε καθαρό χώρο.

Ο χρήστης πρέπει να αποφεύγει τη μόλυνση κατά τη διάρκεια της φύλαξης, π.χ. με στοίβαξη των πλακών σε καθαρές πλαστικές σακούλες.

Για τη φύλαξη των εμφιαλωμένων υλικών καλλιέργειας από ανοιγμένες μονάδες συσκευασίας, ισχύει η διάρκεια ζωής που αναγράφεται στην ετικέτα της συσκευασίας και στις φιάλες ή τα φιαλίδια, εφόσον δεν έχουν ανοιχτεί.

Όλα τα έτοιμα προς χρήση ή μερικώς συμπληρωμένα υλικά καλλιέργειας πρέπει να φυλάσσονται στο σκοτάδι.

Σε περίπτωση έκθεσης σε τεχνητό φως, ηλιακό φως ή υπεριώδες φως για μεγαλύτερη χρονική διάρκεια, η απόδοση όλων των υλικών καλλιέργειας ενδέχεται να είναι μειωμένη. Αρκετά υλικά καλλιέργειας, όπως χρωμογόνα υλικά καλλιέργειας, άγαρ Endo και άλλα, είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα σε έντονο φωτισμό πριν και κατά τη διάρκεια της επώασης.

Όλα τα έτοιμα προς χρήση ή μερικώς συμπληρωμένα υλικά καλλιέργειας **BD** είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν έως την ημερομηνία **λήξης** και να επωαστούν για τους συνιστώμενους χρόνους επώασης.

Για παράδειγμα, αυτό περιλαμβάνει τον ενοφθαλμισμό ενός υλικού καλλιέργειας μυκοβακτηριδίων κατά την ημέρα της ημερομηνίας λήξης του και την επακόλουθη επώαση επί τέσσερις ή έξι εβδομάδες. Αποφεύγετε την αποξήρανση του υλικού καλλιέργειας κατά τη διάρκεια της επώασης.

Η ημερομηνία λήξης (σύμβολο κλεψύδρας) υποδεικνύεται στα επιμέρους δοχεία και στην ετικέτα της συσκευασίας. Σε όλα τα προϊόντα χρησιμοποιείται η μορφή Έτος-Μήνας-Ημέρα, π.χ. η ένδειξη 2004-06-09 σημαίνει 9 Ιουνίου 2004.

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΧΡΗΣΤΗ

Οι διαδικασίες ποιοτικού ελέγχου που υποδεικνύονται στην ενότητα **Οδηγίες χρήσης** πρέπει να εκτελούνται από το χρήστη. Τα στελέχη εξέτασης που αναφέρονται εδώ συνήθως, αλλά όχι

πάντοτε, αντιστοιχούν στα στελέχη που χρησιμοποιούνται στις διαδικασίες ποιοτικού ελέγχου για την εξέταση κυκλοφορίας του προϊόντος στην αγορά από τον κατασκευαστή, τα οποία ενδέχεται να περιλαμβάνουν επιπλέον στελέχη πρόκλησης. Πλέον συχνά, χρησιμοποιούνται στελέχη από την American Type Culture Collection (= ATCC, www.atcc.org), αλλά και στελέχη από Ευρωπαϊκές συλλογές, π.χ. από την Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (= DSM, www.dsmz.de) ή από την National Collection of Type Cultures (= NCTC, www.hpacultures.org.uk).

Ανατρέξτε στο **Πιστοποιητικό ανάλυσης** της αντίστοιχης παρτίδας προϊόντος, το οποίο αναφέρει την πραγματική σειρά στελεχών εξέτασης και τα αποτελέσματα που χρησιμοποιούνται για την κυκλοφορία παρτίδων στην αγορά.

Οι διαδικασίες για τη διεξαγωγή μιας μικροβιολογικής εξέτασης απόδοσης ενδέχεται να εξαρτώνται από τον τύπο υλικού καλλιέργειας και τη μέθοδο που εφαρμόζεται.

Χρησιμοποιείτε πάντοτε φρέσκια εναιωρήματα στελεχών εξέτασης, παρασκευασμένα από ολονύκτιες καλλιέργειες σε κατάλληλα υγρά υλικά καλλιέργειας (π.χ. θρυπτικός ζωμός σόγιας ή ζωμός σόγιας **Trypticase** για αερόβιους μικροοργανισμούς και ζωμός Schaedler με αιμίνη και βιταμίνη K για αναερόβιους μικροοργανισμούς). Εναλλακτικά, είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν φρέσκα εναιωρήματα παρασκευασμένα από ολονύκτιες καλλιέργειες σε υλικά καλλιέργειας σε πλάκες. Οι χρόνοι επώασης των προκαλλιεργιών πρέπει να παρατείνονται εάν το στέλεχος της εξέτασης αναπτύσσεται βραδέως.

Για **εξέταση της θρεπτικής ικανότητας ενός υλικού καλλιέργειας σε πλάκες** σύμφωνα με το πρότυπο M22 της CLSI, αραιώστε το εναιώρημα ενοφθαλμίσματος για την παροχή 1 έως 2×10^4 CFU ανά πλάκα.⁴ Εάν με αυτό δεν παρέχονται απομονωμένες αποικίες, θα πρέπει να χρησιμοποιείται ενοφθαλμισμό δεκαπλάσιας αραιώσης. Σύμφωνα με το πρότυπο DIN EN 12322, οι ιδιότητες ενίσχυσης της ανάπτυξης εξετάζονται με 100 έως 1000 CFU ή με επαρκή ποσότητα CFU για την παροχή απομονωμένων αποικιών με κατάλληλη τεχνική γραμμωτής επίστρωσης.⁵ Εάν τα στελέχη ενοφθαλμίζονται με ποσοτική τεχνική επίστρωσης σε πλάκες, 50 έως 500 CFU ανά πλάκα είναι συνήθως κατάλληλες για την επίτευξη δυνάμενου να καταμετρηθεί αριθμού αποικιών. Σύμφωνα με τις οδηγίες της Φαρμακοποιίας των Η.Π.Α. (USP) και της Ευρωπαϊκής φαρμακοποιίας (EP), πρέπει να χρησιμοποιούνται 10 έως 100 CFU ανά πλάκα (ή δοχείο).^{6,7}

Για **εξέταση της ανασταλτικής ικανότητας ενός εκλεκτικού υλικού καλλιέργειας σε πλάκες**, σύμφωνα με το πρότυπο M22 του CLSI, πρέπει να χρησιμοποιούνται 1 έως 2×10^5 CFU ανά πλάκα για ενοφθαλμισμό και περίπου 10^4 ή περισσότερο CFU σύμφωνα με το πρότυπο DIN EN 12322.^{4,5} Πολύ πυκνά ενοφθαλμίσματα ανεπιθύμητων στελεχών ενδέχεται να “υπερφορτώσουν” το υλικό καλλιέργειας και να οδηγήσουν σε “απότομη” ανάπτυξη.

Για σύγκριση, συμπεριλαμβάνετε πάντοτε ένα υλικό αναφοράς ανάπτυξης, το οποίο πρέπει να είναι ένα μη εκλεκτικό υλικό καλλιέργειας που παρέχει βέλτιστη ανάπτυξη όλων των στελεχών εξέτασης. Για αερόβια στελέχη, το άγαρ Columbia με αίμα προβάτου 5%, για απαιτητικά στελέχη (όπως το *Neisseria gonorrhoeae*) σοκολατούχο άγαρ, για αναερόβια στελέχη το άγαρ Schaedler με βιταμίνη K και αίμα προβάτου 5% και για μύκητες το άγαρ γλυκόζης Sabouraud είναι κατάλληλα για το σκοπό αυτό. Σε περίπτωση ποσοτικής εξέτασης, η ανάπτυξη “επιθυμητών” στελεχών στο υλικό εξέτασης πρέπει να είναι τουλάχιστον 70% εκείνης που εμφανίζεται στο υλικό αναφοράς. Σε εκλεκτικά υλικά καλλιέργειας, η ανάπτυξη “μη επιθυμητών” στελεχών πρέπει να είναι μερικώς έως πλήρως ανασταλμένη. Ο βαθμός

αναστολής εξαρτάται από το υλικό καλλιέργειας και τα στελέχη, αλλά η ανάπτυξη συνήθως μειώνεται κατά ένα συντελεστή 10^3 έως 10^4 (ή περισσότερο) σε σύγκριση με την ανάπτυξη στο μη εκλεκτικό υλικό αναφοράς ανάπτυξης.

Για εξέταση της **απόδοσης ανάπτυξης των υλικών καλλιέργειας σε φιαλίδια ή φιάλες**, χρησιμοποιούνται συγκρίσιμες μέθοδοι. Πρέπει να ενοφθαλμίζονται μικρότερα σωληνάρια και φιαλίδια με 10^5 CFU σύμφωνα με το πρότυπο M22 της CLSI.⁴ Στις διαδικασίες της EP, της USP και του προτύπου DIN EN 12322, απαιτούνται τα ίδια ενοφθαλμίσματα, όπως παρατίθεται παραπάνω για τα υλικά καλλιέργειας σε πλάκες.⁵⁻⁷ Φιαλίδια ή φιάλες με όγκους πλήρωσης άνω των 10 mL πρέπει πρώτα να μοιράζονται σε κλάσματα σε όγκους των 5 ή 10 mL σε στείρα σωληνάρια και να εξετάζονται με τον ίδιο τρόπο.

Επώαστε και επιθεωρήστε τα ενοφθαλμισμένα υλικά καλλιέργειας, όπως περιγράφεται για το αντίστοιχο προϊόν.

Προσδιορίστε το **pH** ποτενσιομετρικά σε θερμοκρασία δωματίου (25° C) για την τήρηση των τιμών που καθορίζονται για το προϊόν. Το εύρος τιμών pH που δίνεται στο έγγραφο **Οδηγίες χρήσης** είναι εκείνο που προσδιορίζεται μετά την κατασκευή του υλικού καλλιέργειας. Ενδέχεται να ποικίλλει ελαφρά κατά τη διάρκεια ζωής και να εξαρτάται από το σύστημα ηλεκτροδίων που χρησιμοποιείται.

Η **στεριότητα του προϊόντος** είναι δυνατό να ελεγχθεί από το χρήστη με επώαση αρκετών πλακών (ή δοχείων, π.χ. φιαλών) σε κατάλληλη θερμοκρασία επώασης (π.χ. 28 έως 35 °C) επί 5 έως 7 ημέρες ή όπως είναι κατάλληλο για τις διαδικασίες που θα ακολουθηθούν.^{6,7}

Υγρά υλικά καλλιέργειας με φυσική θολερότητα πρέπει να ανακαλλιεργούνται πάνω σε κατάλληλο στερεό υλικό καλλιέργειας (π.χ. πλάκες με άγαρ σόγιας **Trypticase**) μετά την επώαση για τον προσδιορισμό της στεριότητας. Επίσης, σε περίπτωση αμφιβολίας, ενδέχεται να είναι πολύτιμη η διενέργεια χρώσεων κατά Gram και μικροσκοπία από τα υλικά καλλιέργειας.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Στην ενότητα **Παρεχόμενα υλικά**, υποδεικνύονται τα υλικά καλλιέργειας και ο τύπος δοχείου. Τα περισσότερα έτοιμα προς χρήση υλικά καλλιέργειας σε πλάκες **BD** παρέχονται σε τριβλία **BD Stacker** των 90 mm, σχεδιασμένα για να ασφαρίζονται το ένα πάνω στο άλλο, έτσι ώστε να ελαχιστοποιείται ο κίνδυνος ολίσθησης των στοιβών. Ορισμένα έτοιμα προς χρήση υλικά καλλιέργειας σε πλάκες **BD** παρέχονται σε διάφορους τύπους τριβλίων, όπως διαιρούμενα τριβλία (=διπλές πλάκες), τριβλία επαφής, τριβλία των 150 mm ή τετράγωνα τριβλία, ανάλογα με την εφαρμογή.

Τα έτοιμα προς χρήση ή μερικώς συμπληρωμένα υλικά καλλιέργειας **BD** σε φιάλες ή φιαλίδια διατίθενται σε πολλά διαφορετικά μεγέθη, όγκους πλήρωσης και με διαφορετικά πώματα, ανάλογα με τη χρήση και την εφαρμογή τους.

Εδώ, δίνονται πληροφορίες σχετικά με τη μικροβιολογική κατάσταση του προϊόντος:

Υλικά καλλιέργειας σε πλάκες, εμβαπτιζόμενες αντικειμενοφόροι πλάκες και ορισμένα υλικά καλλιέργειας σε φιάλες ή φιαλίδια πληρώνονται υπό άσηπτες συνθήκες και είναι “μικροβιολογικώς ελεγχόμενα”. Για αυτά τα υλικά καλλιέργειας, σύμφωνα με το πρότυπο DIN EN 12322, επιτρέπεται ποσοστό μόλυνσης $\leq 5\%$.⁵ Ωστόσο, τα εσωτερικά κριτήρια για την κυκλοφορία των προϊόντων στην αγορά είναι πιο αυστηρά. Εμφιαλωμένα υλικά καλλιέργειας που αποστειρώνονται στο τελικό δοχείο τους,

επισημαίνονται με το σύμβολο “στείρο”, σε συνδυασμό με το σύμβολο του “θερμομέτρου” (για την ένδειξη “αποστείρωση σε αυτόκαυστο”). Για αυτά τα υλικά καλλιέργειας, ισχύουν τα κριτήρια στείρων προϊόντων σύμφωνα με την ΕΡ.⁶

Στην ενότητα **Υλικά που δεν παρέχονται**, αναφέρεται ειδικός εξοπλισμός που είναι απαραίτητος για την εκτέλεση της εξέτασης. Συνήθη υλικά όπως κρίκοι ενοφθαλμισμού, εργαλεία διασποράς, συστήματα πιπετών, θάλαμοι επώασης κ.λπ. δεν αναφέρονται εδώ επειδή είναι γενικά απαραίτητα σε ένα μικροβιολογικό εργαστήριο.

Στην ενότητα **Τύποι δειγμάτων**, υποδεικνύεται(ονται) το(α)δείγμα(τα) που θα χρησιμοποιηθεί(ούν) με το ειδικό υλικό καλλιέργειας. Εάν είναι απαραίτητο, δίνονται ειδικές απαιτήσεις για τη συλλογή και τη μεταφορά του δείγματος στην ενότητα **Συλλογή και μεταφορά**.

Τα δείγματα πρέπει να συλλέγονται και να μεταφέρονται κατάλληλα, με χρήση κατάλληλων υλικών μεταφοράς για την αποφυγή της αποξήρανσης, της υπερβολικής έκθεσης στο οξυγόνο ή της υπερβολικής ανάπτυξης συμβιωτικών μικροοργανισμών. Επίσης, η χρονική περίοδος που χρειάζεται από τη συλλογή έως την επεξεργασία των δειγμάτων στο εργαστήριο είναι σημαντική και πρέπει να είναι όσο το δυνατό πιο σύντομη. Για λεπτομέρειες σχετικά με τις μεθόδους συλλογής και μεταφοράς για ειδικά παθογόνα, πρέπει να συμβουλευέστε κατάλληλες αναφορές.⁸

Στην ενότητα **Διαδικασία της εξέτασης**, περιγράφονται γενικές και ειδικές πληροφορίες σχετικά με τον ενοφθαλμισμό του ειδικού υλικού καλλιέργειας και, εάν είναι απαραίτητο, η χρήση επιπλέον υλικών καλλιέργειας.

Ενοφθαλμισμός υλικών καλλιέργειας

Είναι ορθή εργαστηριακή πρακτική στη μικροβιολογία η εκτέλεση του ενοφθαλμισμού των υλικών καλλιέργειας με το δείγμα, με γραμμωτή επίστρωση για απομόνωση, εφαρμόζοντας τρία βήματα γραμμωτής επίστρωσης σε κάθε πλάκα με ένα προαποστειρωμένο κρίκο πριν από κάθε βήμα γραμμωτής επίστρωσης. Εάν χρησιμοποιούνται προαποστειρωμένοι κρίκοι, πρέπει να χρησιμοποιηθεί ξεχωριστός κρίκος για κάθε βήμα γραμμωτής επίστρωσης. Εάν το υλικό καλλιεργείται απευθείας από ένα στειλεό, κυλήστε το στειλεό πάνω σε μια μικρή περιοχή της επιφάνειας στην άκρη. Κατόπιν επιστρώστε γραμμωτά για απομόνωση από αυτή την ενοφθαλμισμένη περιοχή με κρίκους, εφαρμόζοντας δύο βήματα γραμμωτής επίστρωσης.

Η τεχνική αυτή επιτρέπει την απομόνωση μεμονωμένων αποικιών από μεικτές καλλιέργειες. Για ταυτοποίηση και εξετάσεις ευαισθησίας των απομονωμένων στελεχών, είναι υποχρεωτική η χρήση καθαρών καλλιεργειών, οι οποίες λαμβάνονται από μεμονωμένες αποικίες.

Επίσης, εδώ αναφέρεται η θερμοκρασία και ο χρόνος επώασης.

Είναι ορθή εργαστηριακή πρακτική η τακτική επιθεώρηση της πραγματικής **θερμοκρασίας των θαλάμων επώασης**. Θερμοκρασίες κάτω και άνω του δεδομένου εύρους τιμών ενδέχεται να οδηγήσουν σε απώλεια της βιωσιμότητας των μικροοργανισμών στις καλλιέργειες, σε μειωμένη ανάπτυξη ή σε μη αναπαραγώγιμα αποτελέσματα. Κατά τη διάρκεια της επώασης των έτοιμων προς χρήση υλικών καλλιέργειας σε πλάκες, παρέχετε επαρκή **υγρασία**, ειδικά εάν αυτά επωάζονται για παρατεταμένη χρονική περίοδο. Στην περίπτωση αυτή, δεν πρέπει να

χρησιμοποιούνται θάλαμοι επώασης με κυκλοφορία αέρα, επειδή τα υλικά καλλιέργειας ενδέχεται να αποξηρανθούν σημαντικά, ειδικά όταν η υγρασία του αέρα στο εργαστήριο είναι χαμηλή. Καλλιέργειες σε πλάκες μικροοργανισμών που είναι προσαρμοσμένοι σε υγρά περιβάλλοντα, π.χ. *Legionella*, πρέπει να επωάζονται σε υδροποιημένους θαλάμους ή δοχεία. Οι πλάκες είναι δυνατόν επίσης να σφραγιστούν με αυτοκόλλητη ταινία για τη μείωση της εξάτμισης. Ωστόσο, μια ελάχιστη ανταλλαγή αερίων πρέπει να διασφαλίζεται. Αυτό ισχύει επίσης σε υλικά καλλιέργειας σε σωληνάρια: κατά τη διάρκεια της επώασης, τα βιδωτά καπάκια πρέπει να είναι πάντοτε ελαφρώς ξεσφιγμένα.

Στην ενότητα **Αποτελέσματα**, παρέχονται πληροφορίες σχετικά με την εμφάνιση των μικροοργανισμών στο ειδικό υλικό καλλιέργειας. Για υλικά απομόνωσης και ανάπτυξης γενικής χρήσης, αυτές οι ειδικές πληροφορίες δεν είναι δυνατό να δοθούν για όλους τους μικροοργανισμούς που έχουν την ικανότητα ανάπτυξης στο υλικό καλλιέργειας. Πρέπει να συμβουλευέστε κατάλληλες αναφορές.⁹

Τέλος, ειδικές πληροφορίες παρέχονται στην ενότητα **Υπολογισμός και ερμηνεία των αποτελεσμάτων**. Η ενότητα αυτή συμπεριλαμβάνεται εάν μια διάγνωση εξαρτάται από την ποσότητα των παθογόνων μικροοργανισμών σε ένα δείγμα. Για παράδειγμα, αυτό ισχύει για υλικά καλλιέργειας όπως το άγαρ CLED, το οποίο χρησιμοποιείται για την καταμέτρηση βακτηριδίων σε ούρα.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΚΑΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Παρουσιάζεται η απόδοση του υλικού καλλιέργειας και, εάν έχει εφαρμογή, δίνονται οι τύποι μικροοργανισμών που είναι δυνατό να απομονωθούν με το υλικό καλλιέργειας, σε συνδυασμό με πηγές αποδείξεων. Για νεοεισαχθέντα ή πρόσφατα εισαχθέντα υλικά καλλιέργειας, είναι δυνατό να συμπεριληφθούν στην ενότητα αυτή αποτελέσματα από αξιολογήσεις απόδοσης.

Πρέπει να τονιστεί ότι ένα μεμονωμένο υλικό καλλιέργειας είναι μόνο σπανίως επαρκές για την ανίχνευση όλων των μικροοργανισμών δυνητικής σημασίας σε ένα δείγμα. Επίσης, ενδέχεται να υπάρχουν μεμονωμένα στελέχη εντός ενός μικροβιακού πληθυσμού που δεν αναπτύσσονται σωστά σε ένα ορισμένο υλικό καλλιέργειας, παρότι το υλικό αυτό είναι κατάλληλο για την ανίχνευση των περισσότερων άλλων στελεχών του είδους αυτού. Επομένως, για τα περισσότερα δείγματα, δύο ή τρία διαφορετικά υλικά καλλιέργειας ενοφθαλμίζονται ταυτόχρονα ή ένα μη εκλεκτικό υλικό καλλιέργειας συνδυάζεται με ένα ή δύο εκλεκτικά υλικά καλλιέργειας ή χρησιμοποιούνται δύο εκλεκτικά υλικά καλλιέργειας με διαφορετικό βαθμό εκλεκτικότητας.

Επίσης, στην ενότητα αυτή αναφέρονται ειδικοί γνωστοί **περιορισμοί της εφαρμογής** του υλικού καλλιέργειας.

Για τα περισσότερα από τα υλικά καλλιέργειας, για την επίτευξη τελικής ταυτοποίησης των μικροοργανισμών που απομονώνονται, είναι απαραίτητες περαιτέρω εξετάσεις.

ΑΝΑΦΟΡΕΣ

Στην ενότητα αυτή δίνεται η βιβλιογραφία που αναφέρεται στο έγγραφο.

ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ/ΔΙΑΘΕΣΙΜΟΤΗΤΑ

Στην ενότητα αυτή, αναφέρονται οι διαθέσιμοι **αριθμοί καταλόγου, τα μεγέθη συσκευασίας** και, εάν έχει εφαρμογή, οι διάφορες μορφές.

ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Στην ενότητα αυτή, δίνονται περαιτέρω πληροφορίες, όπως μεταξύ άλλων η διεύθυνση του κατασκευαστή (σύμβολο για το “εργοστάσιο”). Τέλος, δίνονται τα εμπορικά σήματα που αναφέρονται στα ειδικά έγγραφα.

ΑΝΑΦΟΡΕΣ ΠΟΥ ΠΑΡΑΤΙΘΕΝΤΑΙ ΣΕ ΑΥΤΟ ΤΟ ΕΓΓΡΑΦΟ ΓΕΝΙΚΩΝ ΟΔΗΓΙΩΝ ΧΡΗΣΗΣ

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