



**VIEŠOSIOS ĮSTAIGOS
VILNIAUS UNIVERSITETO LIGONINĖS
SANTARIŠKIŲ KLINIKŲ
GENERALINIS DIREKTORIUS**

**ĮSAKYMAS
DĖL LABORATORINĖS MEDICINOS CENTRO KOKYBĖS VADYBOS DOKUMENTŲ
TVIRTINIMO**

2013-04-30 Nr. V-227
Vilnius

Siekdamas įgyvendinti Lietuvos Respublikos SAM 2008-04-29 įsakymą Nr. V-338 „Dėl minimalių asmens sveikatos priežiūros paslaugų kokybės reikalavimų aprašo tvirtinimo“ bei adaptuoti ligoninėje funkcionuojančią kokybės vadybos sistemą ir dokumentaciją LSN EN ISO 9001:2008 standarto reikalavimams

1. T v i r t i n u:

- 1.1 procedūrą LMC ML P 01 -2013 „Sterilumo nustatymas kraujo komponentų pakuotėse ir jų fragmentuose automatizuotu Bactec metodu“,
- 1.2 procedūrą LMC ML P 02 -2013 „Sterilumo nustatymas kraujo komponentų pakuotėse atliekant pasėlį rankiniu metodu“,
- 1.3 procedūrą LMC ML P 03 -2013 „Pasėlis nuo paruoštos venos punkcijai rankos odos“.

2. Į s a k a u Laboratorinės medicinos centro direktorei Z. A. Kučinskienei užtikrinti tyrimų atlikimą pagal patvirtintas procedūras.

3. Įsakymo vykdymo kontrolę p a v e d u direktoriui medicinai M.Petrulioniui.

L.e. generalinio direktoriaus pareigas

Elena Jurevičienė

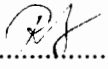
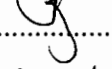
Č.Špūrienė, 1555

VšĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra STERILUMO NUSTATYMAS KRAUJO KOMPONENTŲ PAKUOTĖSE IR JŲ FRAGMENTUOSE AUTOMATIZUOTU BACTEC METODU	LMC – ML P 01 -2013
		1 lapas
		Leidimas 1

**STERILUMO NUSTATYMAS KRAUJO KOMPONENTŲ
PAKUOTĖSE IR JŲ FRAGMENTUOSE
AUTOMATIZUOTU BACTEC METODU**

Egzempliorius Nr.

Dokumentas konfidencialus,
dauginimas be Medicininio
audito skyriaus vedėjo
leidimo draudžiamas

Parengė: Rūta Ambrazaitienė LMC Mikrobiologijos laboratorijos vyr. ordinatorė Parašas:  Data: 2013-04-29	Tikrino: Zita Aušrelė Kučinskienė LMC Direktorė  Parašas:  Data: 2013-04-29	Patvirtinta: VšĮ VUL SK Generalinio direktoriaus Įsakymu Nr. V-427 Data: 2013 04 29
--	--	---

VšĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra STERILUMO NUSTATYMAS KRAUJO KOMPONENTŲ PAKUOTĖSE IR JŲ FRAGMENTUOSE AUTOMATIZUOTU BACTEC METODU	LMC – ML P 01 -2013
		2 lapas
		Leidimas 1

Turinys

1. PASKIRTIS.....	3
2. TAIKYMO SRITIS.....	3
3. SANTRUMPOS IR PAAIŠKINIMAI.....	3
4. ATSAKOMYBĖ.....	4
5. APRAŠYMAS.....	4
5.1 Metodo principas.....	4
5.2 Ėminio surinkimas, pristatymo ir laikymo sąlygos.....	5
5.3 Įranga, reagentai ir priemonės.....	5
5.4 Tyrimo eiga.....	6
5.5 Rezultatų interpretavimas.....	7
5.6 Kokybės kontrolė.....	7
5.7 Galimos neatitikčių priežastys.....	8
5.8 Rezultatų dokumentavimas ir perdavimas užsakovui.....	8
6. NUORODOS.....	9
7. DOKUMENTACIJA.....	11
8. KEITIMAI.....	11
9. PASKIRSTYMAS.....	11
10. PRIEDAI.....	11

VŠĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra STERILUMO NUSTATYMAS KRAUJO KOMPONENTŲ PAKUOTĖSE IR JŲ FRAGMENTUOSE AUTOMATIZUOTU BACTEC METODU	LMC – ML P 01 -2013
		3 lapas
		Leidimas 1

1. PASKIRTIS

Ši procedūra skirta nustatyti tvarką ir reikalavimus, kaip ištirti kraujo komponentų pakuotėse ar jų fragmentuose sterilumą ar mikrobinių užteršimą, atliekant pasėlį automatizuotu Bactec metodu. Tiriamieji kraujo komponentai: eritrocitų masė, trombocitų koncentratas, šviežiai šaldyta plazma.

Procedūra taip pat skirta trombocitų koncentrato galiojimo laiko pratęsimui.

2. TAIKYMO SRITIS

Ši procedūra taikoma VŠĮ Vilniaus universiteto ligoninių Santariškių klinikų Laboratorinės medicinos centre ir privaloma LMC M darbuotojams atliekantiems kraujo komponentų pakuotėse ir jų fragmentuose mikrobiologinius tyrimus, vertinantiems ir dokumentuojantiems rezultatus.

3. SANTRUMPOS, PAAIŠKINIMAI IR TERMINAI

A – atsako

D – dalyvauja

EN – Europos norma

Ėminys – tiriamosios visumos dalis, paimta tirti arba bandyti; pagal paskirtį gali būti kontrolinis, tiriamasis, laboratorinis

ISO – tarptautinė standartizacijos organizacija

I – informuojamas

K – kontroliuoja

KLTR – klinikos laborantas tyrimų registratorius

Kraujo komponentai – eritrocitų masė, trombocitų koncentratas, šviežiai šaldyta plazma

KV – kokybės vadybininkas

LIS – laboratorijos informacijos sistema

LMC – Laboratorinės medicinos centras

LMG – laboratorinės medicinos gydytojas

LST – Lietuvos standartas

MASV – Medicininio audito skyriaus vedėjas

ML – Mikrobiologijos laboratorija

MI – mikrobiologijos laborantas

MM – medicinos mikrobiologas

PD – laboratorinės medicinos pagalbinis darbuotojas

Vyr.KL – laboratorinių tyrimų registratūros vyresnysis klinikos laborantas

Vyr. ord. – vyresnysis ordinatorius

VUL SK – VŠĮ Vilniaus universiteto ligoninės Santariškių klinikos

VšĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra STERILUMO NUSTATYMAS KRAUJO KOMPONENTŲ PAKUOTĖSE IR JŲ FRAGMENTUOSE AUTOMATIZUOTU BACTEC METODU	LMC – ML P 01 -2013
		4 lapas
		Leidimas 1

3. ATSAKOMYBĖ

Darbuotojų atsakomybė atliekant procedūrą pateikta matricoje.

Veikla \ Vykdytojas	Vyr. ord.	Vyr. KL	M KV	LMG/ MM	KLTR	MI	PD
Darbuotojų apmokymas dirbti pagal procedūros reikalavimus	K	-	A	D	D	D	-
Kokybės kontrolės programos sudarymas ir atlikimas	K	-	A	D	-	D	-
Laboratorijos įrangos tinkama priežiūra	A	-	D	A	-	A	D
Ėminių priėmimas ir duomenų registravimas į LIS	-	K	-	-	A	I	-
Ėminio perkėlimas į kraujo pasėlių terpę	-	-	K	I	-	A	-
Ėminio registravimas ir įdėjimas į kraujo pasėlių analizatorių	-	-	K	I	-	A	-
Persėjimai ir identifikacinių testų atlikimas	-	-	-	K	-	A	-
Tyrimų rezultatų vertinimas	K	-	K	A	-	D	-
Tyrimų rezultatų registravimas į LIS	-	-	-	K	-	A	-
Spausdintų tyrimų rezultatų patvirtinimas spaudu ir parašu	K	-	-	A	-	A	-
Tyrimo užsakovo konsultavimas ir informavimas	A	D	A	A	D	D	-
Biologine medžiaga užterštų vienkartinių priemonių dėžių gabenimas į surinkimo vietą	-	-	K	-	-	-	A

5. APRAŠYMAS

5.1. Metodo principas

Metodas skirtas nustatyti kraujo komponentų produktų sterilumą arba mikrobinių užteršimą. Kraujo produktų bakterinis užteršimas yra viena anksčiausiai aprašytų potransfuzinių komplikacijų priežasčių. Bakterijų kiekis kraujo produkte paprastai yra labai mažas, todėl tiesioginių pasėlių metodai nėra pakankamai jautrūs joms aptikti. Šioje procedūroje aprašytas mikroorganizmų auginimo metodas, atliekamas automatizuotu Bactec būdu.

Automatizuoti tyrimo metodai yra vieninteliai patikimi tyrimai kraujo produkto galiojimo laiko pratęsimui, nes tik šiais metodais galima patvirtinti, kad nėra bakterijų augimo 24 val. laikotarpyje.

VŠĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra STERILUMO NUSTATYMAS KRAUJO KOMPONENTŲ PAKUOTĖSE IR JŲ FRAGMENTUOSE AUTOMATIZUOTU BACTEC METODU	LMC – ML P 01 -2013
		5 lapas
		Leidimas 1

Tiriamieji kraujo komponentai aseptiškai perkeliama į kraujo pasėliams skirtas terpes ir inkubuojami kraujo pasėlių analizatoriuje. Bakterijoms dauginantis, išsiskiria CO₂. Kraujo pasėlių terpės dugne yra substratas, kuriam reaguojant su CO₂, sužadinama fluorescencija. Analizatoriaus detektorius kas 15 min. vertina fluorescencijos lygį. Jei fluorescencijos lygio augimo kreivė yra būdinga mikroorganizmų augimui, analizatorius garsiniu ir šviesos signalu praneša apie augimą.

5.2. Ėminio surinkimas, pristatymo ir laikymo sąlygos

- 5.2.1. Už tiriamosios medžiagos pristatymą į laboratoriją, atsakingas užsakovas. Kraujo komponentų produktai gabenami gamintojo taroje. Užsakovas pristato visą nepažeistą pakuotę, arba nepažeistą pridėtinį maišelį. Svarbu! Prieš mikrobiologinį tyrimą iš pakuotės negali būti imama kraujo komponentų produkto kitiems tyrimams, kad nebūtų pažeidžiama pakuotė.
- 5.2.2. Tiriamoji medžiaga turi būti pristatoma į LMC Laboratorinių tyrimų registratūrą darbo dienomis 7.00–17.30 val., šeštadieniais 7.00–16.30 val., sekmadieniais ir švenčių dienomis 7.00–15.30 val. Maksimalus transportavimo laikas – 2 val. transportuojant kambario temperatūroje, jei to padaryti neįmanoma – ėminys gali būti laikomas šaldytuve (+4–+8° C temperatūroje) iki 24 val. arba užšaldomas.
- 5.2.3. Ėminio atmetimo kriterijai:
 - 5.2.3.1. Pažeista gaminio pakuotė;
 - 5.2.3.2. Tiriamosios medžiagos kiekis < 5 ml;
 - 5.2.3.3. Nesilaikyta transportavimo sąlygų reikalavimų.

5.3. Įranga, reagentai ir priemonės

5.3.1. Įranga:

- 5.3.1.1. Bactec kraujo pasėlių analizatorius;
- 5.3.1.2. Termostatas 36±1 ° C;
- 5.3.1.3. Biologinės saugos boksas;
- 5.3.1.4. Šviesinis mikroskopas; padidinimas x1000.

5.3.2. Reagentai:

- 5.3.2.1. Bactec buteliukai su kraujo pasėlių terpe aerobinėms bakterijoms;
- 5.3.2.2. Bactec buteliukai su kraujo pasėlių terpe anaerobinėms bakterijoms;
- 5.3.2.3. Bactec buteliukai su kraujo pasėlių terpe grybams;
- 5.3.2.4. Bactec buteliukai su kraujo pasėlių terpe, pritaikyti mažam ėminio kiekiui (pediatriniai);
- 5.3.2.5. Dažų rinkinys tepinėlių dažymui Gramo būdu.

5.3.3. Priemonės:

- 5.3.3.1 Spiritinis degiklis;
- 5.3.3.2. 96% etanolis;

VŠĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra STERILUMO NUSTATYMAS KRAUJO KOMPONENTŲ PAKUOTĖSE IR JŲ FRAGMENTUOSE AUTOMATIZUOTU BACTEC METODU	LMC – ML P 01 -2013
		6 lapas
		Leidimas 1

5.3.3.3. 70% etanolis;

5.3.3.4. 20 ml ir 5 ml sterilūs švirkštai;

5.3.3.5. Vata;

5.3.3.6. Objektiniai ir dengiamieji stiklėliai;

5.3.3.7. Vienkartinės sterilios pirštinės;

5.3.3.8. Kartoninės bei plastikinės dėžės, išklotos skysčiams nepralaidžiais maišais, skirtos panaudotos biologinės medžiagos bei užterštų vienkartinių priemonių gabenimui nukenksminti.

5.4. Tyrimo eiga

- 5.4.1. Laboratorinių tyrimų registratūroje KL TR priima kraujo produktų pakuotes ir pridėtinius maišelius ir registruoja duomenis į LIS.
- 5.4.2. Trombocitų koncentrato galiojimo laiko pratęsimui visada atliekamas mikrobiologinis ištyrimas automatizuotu metodu.
- 5.4.3. Planiniam kraujo produkto pakuotės sterilumo patikrinimui mikrobiologinis ištyrimas automatizuotu metodu atliekamas tik tada, kai lydraštyje užsakovas pažymi, jog tyrimas turi būti atliekamas automatizuotu metodu.
- 5.4.4. Ėminį į kraujo pasėlių terpių buteliukus perkelia MI.
- 5.4.5. Planiniam kraujo komponentų sterilumo patikrinimui ėminys imamas į 3 kraujo pasėlių terpes: aerobams, anaerobams, grybams.
- 5.4.6. Trombocitų koncentrato galiojimo laiko pratęsimui ėminys imamas tik į 2 kraujo pasėlių terpes (pediatrinį bei anaerobams), nes 24 val. laikotarpis, per kurį reikia įvertinti pakuotės tinkamumą, yra per trumpas grybų išauginimui.
- 5.4.7. Optimalus ėminio kiekis 1 buteliukui 8–10 ml, minimalus – 3 ml, pediatriniam buteliukui optimalus kiekis – 1–3 ml.
- 5.4.8. Paėmimas vyksta biologinės saugos bokse; paėmimo metu darbuotojas mūvi vienkartinės pirštines. Pakuotės dalis, per kurią bus imamas produktas ir buteliukų su kraujo pasėlių terpėmis guminiai kamštėliai dezinfekuojami 70% etanoliu.
- 5.4.9. Tiriant visą pakuotę, pakuotė atsargiai pavartoma, 20 ml švirkštu aseptiškai paimama 16 ml kraujo produkto ir suleidžiama po 8 ml į 3 kraujo pasėlių terpių buteliukus: aerobams, anaerobams, grybams.
- 5.4.10. Tiriant fragmentą, ėminys aseptiškai paimamas steriliu 5 ml švirkštu. 2 ml ėminio perkeliama į pediatrinį buteliuką su kraujo pasėlių terpe, likusi ėminio dalis (3 ml) – į buteliuką su kraujo pasėlių terpe anaerobams.
- 5.4.11. MI registruoja duomenis į kraujo pasėlių analizatorių Bactec ir sudeda buteliukus į laisvas vietas analizatoriuje.
- 5.4.12. Atliekant pasėlį dėl trombocitų koncentrato galiojimo laiko pratęsimo, Kraujo centro gydytojai po 24 val. nuo pasėlio inkubacijos pradžios teiraujasi telefonu apie augimo rezultatus. Jiems pranešama išankstinė informacija.

VšĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra STERILUMO NUSTATYMAS KRAUJO KOMPONENTŲ PAKUOTĖSE IR JŲ FRAGMENTUOSE AUTOMATIZUOTU BACTEC METODU	LMC – ML P 01 -2013
		7 lapas
		Leidimas 1

- 5.4.13. Jeigu Bactec analizatorius informuoja apie augimą, kraujo pasėlio buteliukas išimamas iš analizatoriaus, mikroskopuojamas tepinėlis, dažytas Gramo būdu. Išankstiniai rezultatai nedelsiant pranešami telefonu.
- 5.4.14. Išauginti mikroorganizmai identifikuojami iki rūšies bendraisiais mikrobiologiniais metodais (mikroskopija, mikroorganizmo augimo bei fermentacinių savybių tyrimai, mikroorganizmo antigeninės struktūros tyrimai agliutinacijos testai). Metodas pasirenkamas pagal tikėtiną mikroorganizmo rūšį, atlikus mikroskopinį tyrimą.
- 5.4.15. Identifikavimo metodai ir jų pasirinkimo algoritmai aprašomi mikroorganizmų identifikavimo procedūrose.
- 5.4.16. Jei per penkių parų laikotarpį kraujo pasėlio buteliuke nepasireiškia augimas, analizatorius informuoja, kad pasėlis neigiamas. Buteliukai išimami iš analizatoriaus, registruojami ir įdedami iš naujo kitam 5 parų inkubacijos laikotarpiui.
- 5.4.17. Biologinė medžiaga bei užterštos vienkartinės priemonės surenkamos ir gabenamos nukenksminti laikantis VULSK generalinio direktoriaus 2008 m kovo 18 d įsakymo Nr. V-149 „Dėl medicininių atliekų tvarkymo reikalavimų“ nuostatų.

5.5. Rezultatų interpretavimas

Sterilu – jei po 10 parų inkubacijos aerobiniame ir anaerobiniame buteliukuose, o po 14 parų grybų auginimui skirtame buteliuke, analizatorius neužfiksavo mikroorganizmų augimo.

Mikrobinis užteršimas – Aptikus bet kokį bakterijų arba grybų augimą. [vardijama išskirto mikroorganizmo rūšis.

5.6. Kokybės kontrolė

- 5.6.1. Vidinė kraujo pasėlių butelių terpių kokybės kontrolė atliekama kiekvienam buteliuko tipui, kiekvienai naujai serijai, bet ne rečiau kaip 1 kartą į metų ketvirtį.

5.6.2. Kokybės kontrolei naudojamos tokios kolekcinės mikroorganizmų padermės:

Nr.	Buteliuko tipas	Mikroorganizmo padermė
1.	Bactec aerobams bei Bactec pediatrinis	<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619 <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29523 <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228 <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 <i>Neisseria meningitidis</i> ATCC 13090 <i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 49247 <i>Bacillus subtilis</i>

VšĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra STERILUMO NUSTATYMAS KRAUJO KOMPONENTŲ PAKUOTĖSE IR JŲ FRAGMENTUOSE AUTOMATIZUOTU BACTEC METODU	LMC – ML P 01 -2013
		8 lapas
		Leidimas 1

2.	Bactec anaerobams	<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124 <i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285 <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619 <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29523 <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 <i>Propionibacterium acnes</i>
3.	Bactec grybams	<i>Candida albicans</i> ATCC 90028 <i>Candida krusei</i> ATCC 6258 <i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019 <i>Aspergillus niger</i>

- 5.6.3. Atliekant kontrolę, kiekvieną kartą naudojama kito mikroorganizmo padermė iš eilės pagal sąrašą.
- 5.6.4. Į mėgintuvėlį su 10 ml sterilaus kraujo, naudojamo terpių ruošimui, aseptinėmis sąlygomis perkeliama 0,1 ml 0,5 MacFarlando mikroorganizmo kultūros suspensijos. Mėgintuvėlis uždengiamas ir atsargiai pavartomas.
- 5.6.5. Steriliu vienkartinio švirkštu 10 ml mėgintuvėlio turinio perkeliama į tiriamąjį kraujo pasėlio terpės buteliuką.
- 5.6.6. Buteliukas dedamas į analizatorių Bactec.
- 5.6.7. Augimo rezultatai registruojami į formą Bactec kraujo pasėlių analizatoriaus kokybės kontrolė (žr. A priedas).
- 5.6.8. ML 2 kartus per metus dalyvauja išorinės kokybės kontrolės programoje „Kraujo kultūra“. 1 kartą per metus atliekama išorinės kokybės kontrolės rezultatų analizė, protokoluoja forma „Mikrobiologinių išorinės kokybės kontrolės tyrimų rezultatų apibendrinimas“ (žr. Procedūrą „Pasėlis nuo paruoštos venos punkcijai donoro rankos odos“)

5.7. Galimos neatitikčių priežastys:

- 5.7.1. Pažeista kraujo produkto pakuotė – gaunamas klaidingai teigiamas rezultatas;
- 5.7.2. Per mažas tiriamosios medžiagos kiekis (< 5 ml) – gaunamas klaidingai neigiamas rezultatas.

5.8. Rezultatų dokumentavimas ir perdavimas užsakovui

- 5.8.1. Informaciją apie gautus ėminius į LIS registruoja KL TR Laboratorinių tyrimų registratūroje.
- 5.8.2. Tyrimo darbo eiga dokumentuojama MI Sanitarinių tyrimų registracijos žurnale.
- 5.8.3. Aptikus bet koki augimą, informacija apie mikroskopijos rezultatus nedelsiant perduodama telefonu tyrimo užsakovui: 1) VUL SK Kraujo centro gydytojams arba 2) Nacionalinio kraujo centro Kokybės užtikrinimo skyriaus vedėjui (užsakovo duomenys nurodyti tyrimo lydraštyje).

VšĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra STERILUMO NUSTATYMAS KRAUJO KOMPONENTŲ PAKUOTĖSE IR JŲ FRAGMENTUOSE AUTOMATIZUOTU BACTEC METODU	LMC – ML P 01 -2013
		9 lapas
		Leidimas 1

- 5.8.4. Užbaigus tyrimą, išrašomas atsakymo protokolas – Mikrobiologinis taršos ir sterilumo tyrimas, kuris atiduodamas į Laboratorinių tyrimų registratūrą.
- 5.8.5. Atsakymo protokolą pasirašo du darbuotojai: MM/LMG ir ML.
- 5.8.6. Tyrimo rezultatus į LIS registruoja ML.
- 5.8.7. Užsakovui pageidaujant, išduodamas atsakymo dublikatas, išspausdinus registruotus LIS rezultatus.
- 5.8.8. Atsakymo „Sterilu“ išrašymo terminas – 10 dienų nuo tiriamosios medžiagos pristatymo į laboratoriją.
- 5.8.9. Atsakymo „Mikrobinis užteršimas“ išrašymo terminas – ne daugiau 5 dienų nuo bakterijų augimo nustatymo. Išankstinių augimo rezultatų perdavimas telefonu – tos pačios darbo dienos bėgyje, kai aptinkamas mikroorganizmu augimas ir gaunami mikroskopinio tyrimo rezultatai.
- 5.8.10. Išankstiniai trombocitų koncentrato augimo rezultatai pranešami užsakovui pageidaujant telefonu po 24 val. nuo inkubacijos pradžios

6. NUORODOS

- 6.1. LST EN ISO 15189:2007 „Medicinos laboratorijos. Ypatingieji kokybės ir kompetencijos reikalavimai“.
- 6.2. LST EN ISO 9001:2008 „Kokybės vadybos sistemos. Reikalavimai“.
- 6.3. LST EN ISO 9000:2007 „Kokybės vadybos sistemos. Pagrindai ir aiškinamasis žodynas“.
- 6.4. LST EN ISO 9004:2009 „Kokybės vadybos sistemos. Veiklos gerinimas. Rekomendacijos“.
- 6.5. CSN EN 12322 - In vitro diagnostic medical devices - Culture media for microbiology - Performance criteria for culture media.
- 6.6. Sveikatos apsaugos ministro 2007 m. gruodžio 5 d. įsakymas Nr. V-998 „Dėl asmens sveikatos priežiūros įstaigų laboratorijų veiklos vertinimo“ (Žin., 2007, Nr. 131-5311, su pakeitimais).
- 6.7. Sveikatos apsaugos ministro 2001 m. lapkričio 20 d. įsakymas Nr. 605 „Dėl bendrųjų kraujo komponentų gamybos sterilumo kontrolės reikalavimų patvirtinimo“ (Žin., 2001, Nr. 99-3564).
- 6.8. Sveikatos apsaugos ministro 2012 m. lapkričio 22 d. įsakymas Nr. V-1063 „Dėl kraujo donorystės įstaigų ir ligoninių kraujo bankų geros praktikos nuostatų patvirtinimo“ (Žin., 2012, Nr. 139-7132).
- 6.9. Sveikatos apsaugos ministro 1999 m. lapkričio 29 d. įsakymas Nr. 515 „Dėl sveikatos priežiūros įstaigų veiklos apskaitos ir atskaitomybės tvarkos“ (Žin., 1999, Nr. 103–2972; Žin., 1999, Nr. 105, su pakeitimais).
- 6.10. Sveikatos apsaugos ministro 2008 m. balandžio 29 d. įsakymas Nr. V-338 „Dėl Minimalių asmens sveikatos priežiūros paslaugų kokybės reikalavimų aprašo tvirtinimo“ (Žin., 2008, Nr. 53-1992, su pakeitimais).

VšĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra STERILUMO NUSTATYMAS KRAUJO KOMPONENTŲ PAKUOTĖSE IR JŲ FRAGMENTUOSE AUTOMATIZUOTU BACTEC METODU	LMC – ML P 01 -2013
		10 lapas
		Leidimas 1

- 6.11. Sveikatos apsaugos ministro 2008 m. kovo 4 d. įsakymas Nr. V-168 „Dėl Lietuvos medicinos normos MN 70:2008 „Laboratorinės medicinos gydytojas. Teisės, pareigos, kompetencija ir atsakomybė“ patvirtinimo“ (Žin., 2008, Nr. 35–1248).
- 6.12. Sveikatos apsaugos ministro 2008 m. kovo 4 d. įsakymas Nr. V-169 „Dėl Lietuvos medicinos normos MN 68:2008 „Medicinos biologas. Teisės, pareigos, kompetencija ir atsakomybė“ patvirtinimo“ (Žin., 2008, Nr. 35–1249).
- 6.13. Sveikatos apsaugos ministro 1999 m. sausio 6 d. įsakymas Nr. 5 „Dėl Lietuvos medicinos normos MN 69:1999 „Klinikos laborantas. Pareigos, teisės ir atsakomybė“ tvirtinimo“ (Žin., 1999, Nr. 5–123).
- 6.14. VULSK Vidaus taisyklės.
- 6.15. VULSK Darbo tvarkos taisyklės.
- 6.16. VULSK generalinio direktoriaus 2008-06-04 įsakymas Nr. V-315 „Dėl nepageidaujamų įvykių privalomo registravimo“.
- 6.17. VULSK generalinio direktoriaus 2009 m. birželio 17 d. įsakymas Nr. V-326 „Dėl Higienos taisyklių tvirtinimo“.
- 6.18. VULSK generalinio direktoriaus 2009 m. liepos 3 d. įsakymas Nr. V-362 „Dėl Pirštinių naudojimo tvarkos tvirtinimo“.
- 6.19. VULSK generalinio direktoriaus 2008 m. kovo 18 d. įsakymas Nr. V-149 „Dėl medicininių atliekų tvarkymo reikalavimų“.
- 6.20. VULSK generalinio direktoriaus 2011 m. birželio 7 d. įsakymas Nr. V-289 „Dėl Laboratorinės diagnostikos centro laboratorinių tyrimų siuntimo formų tvirtinimo“.
- 6.21. VULSK generalinio direktoriaus 2007 m. kovo 2 d. įsakymas Nr. V-133 „Dėl registracijos žurnalų Laboratorinės diagnostikos centre tvirtinimo“.
- 6.22. VULSK Laboratorinės medicinos centro Mikrobiologijos laboratorijos darbuotojų pareigų instrukcijos.
- 6.23. VUL SK Laboratorinės medicinos centro darbuotojų darbų saugos instrukcijos.
- 6.24. P01-2005 „KVS dokumentų parengimas ir valdymas“.
- 6.25. P05-2005 „Kokybės duomenų įrašų valdymas“.
- 6.26. P03-2011 „Neatitikių valdymas. Korekciniai ir prevenciniai veiksmai“..
- 6.27. European Pharmacopoeia 6.0: 5.1.6 Alternative Methods for control of microbiological quality.
- 6.28. European Pharmacopoeia. Monograph 2.6.27. Microbiological control of cellular products 7th edition. 2011.
- 6.28. Comparison of the BACTEC 9240 and BacT/Alert Blood Culture Systems for Detection of Bacterial Contamination in Platelet Concentrates Stefan Riedel, Gregory Siwek,[†] Susan E. Beekmann, Sandra S. Richter, Thomas Raife, and Gary V. Doern, J Clin Microbiol. 2006 June; 44(6): 2262–2264.
- 6.29. Comparison of the Bactec 9240 and BacT/Alert Blood Culture Systems for Evaluation of Placental Cord Blood for Transfusion in Neonates, Stefan Riedel,^{1,*} Alan Junkins,² Paul D. Stamper,¹ Gretchen Cress,³ John A. Widness,³ and Gary V. Doern², J Clin Microbiol. 2009 June; 47(6): 1645–1649.

VšĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra STERILUMO NUSTATYMAS KRAUJO KOMPONENTŲ PAKUOTĖSE IR JŲ FRAGMENTUOSE AUTOMATIZUOTU BACTEC METODU	LMC – ML P 01 -2013
		11 lapas
		Leidimas 1

6.30. Comparison of automated culture systems with a CFR/USP-compliant method for sterility testing of cell-therapy products. Khuu HM, Stock F, McGann M, Carter CS, Atkins JW, Murray PR, Read EJ. Cytotherapy. 2004;6(3):183-95.

7. DOKUMENTACIJA

- 7.1. Sanitarinių tyrimų registracijos žurnalas;
- 7.2. Neatitikčių registravimo žurnalas;
- 7.3. Nepageidaujamų įvykių registravimo žurnalas;
- 7.4. Mikrobiologinis taršos ir sterilumo tyrimas;
- 7.5. Kokybės kontrolės protokolas Bactec kraujo pasėlių analizatoriaus kokybės kontrolė.

8. KEITIMAI

Šios P keitimais atlieka rengėjas pagal P01-2005 „KVS dokumentų parengimas ir valdymas“ reikalavimus.

9. PASKIRSTYMAS

Šios procedūros originalas saugomas pas MASV, kopijos po vieną įteikiamos LMC direktoriui bei LMC ML vyr. ordinatoriui. Kiti su procedūra susipažįsta elektroninėje laikmenoje INTRANET SANTA.

10. PRIEDAI

A priedas. Bactec kraujo pasėlių analizatoriaus kokybės kontrolė.

VšĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra STERILUMO NUSTATYMAS KRAUJO KOMPONENTŲ PAKUOTĖSE IR JŲ FRAGMENTUOSE AUTOMATIZUOTU BACTEC METODU	LMC – ML P 01 -2013
		12 lapas
		Leidimas 1

A priedas

PATVIRTINTA
VšĮ VUL Santariškių klinikų
Generalinio direktoriaus
2013 m. 30 d
Įsakymu Nr. V-227

Bactec kraujo pasėlių analizatoriaus kokybės kontrolė

Bactec buteliuko su kraujo pasėlio terpe pavadinimas	
Protokolo Nr.	
Bactec buteliuko su kraujo pasėlio terpe registracijos Nr.	
Serijos Nr.	
Mikroorganizmų kontrolinės padermės	
Tyrimo rezultatai	
Išvados	
Atlikimo data	
V. Pavardė, parašas	

VšĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra STERILUMO NUSTATYMAS KRAUJO KOMPONENTŲ PAKUOTĖSE IR JŲ FRAGMENTUOSE AUTOMATIZUOTU BACTEC METODU	LMC – ML P 01 -2013
		13 lapas
		Leidimas 1

PASTABOS, PASIŪLYMAI, DERINIMAI

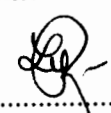
Eil. Nr.	Skyrius	Pastabos ir pasiūlymai (nurodyti punktą, siūlymą arba suderinta be pakeitimų)	Padalinio vadovo parašas
1	2	3	4
1.			
2.			
3.			
4.			
5.			
6.			

VšĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra STERILUMO NUSTATYMAS KRAUJO KOMPONENTŲ PAKUOTĖSE ATLIEKANT PASĖLĮ RANKINIŲ METODU	LMC – ML P 02 -2013
		1 lapas
		Leidimas 1

STERILUMO NUSTATYMAS KRAUJO KOMPONENTŲ PAKUOTĖSE ATLIEKANT PASĖLĮ RANKINIŲ METODU

Egzempliorius Nr.

Dokumentas konfidencialus,
dauginimas be Medicininio
audito skyriaus vedėjo
leidimo draudžiamas

Parengė: Rūta Ambrazaitienė LMC Mikrobiologijos laboratorijos vyr. ordinatorė Parašas:.....  Data: 2013-04-29	Tikrino: Zita Aušrelė Kučinskienė LMC Direktorė  Parašas:..... Data: 2013-04-29	Patvirtinta: VšĮ VUL SK Generalinio direktoriaus Įsakymu Nr. V-227 Data: 2013-04-30
---	---	---

VšĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra STERILUMO NUSTATYMAS KRAUJO KOMPONENTŲ PAKUOTĖSE ATLIEKANT PASĖLĮ RANKINIŲ METODU	LMC – ML
		P 02 -2013
		2 lapas
		Leidimas 1

Turinys

1. PASKIRTIS.....	3
2. TAIKYMO SRITIS.....	3
3. SANTRUMPOS IR PAAIŠKINIMAI.....	3
4. ATSAKOMYBĖ.....	4
5. APRAŠYMAS.....	4
5.1 Metodo principas.....	4
5.2 Ėminio surinkimas, pristatymo ir laikymo sąlygos.....	5
5.3 Įranga, reagentai ir priemonės.....	5
5.4 Tyrimo eiga.....	6
5.5 Rezultatų interpretavimas.....	7
5.6 Kokybės kontrolė.....	7
5.7 Galimos neatitikčių priežastys.....	8
5.8 Rezultatų dokumentavimas ir perdavimas užsakovui.....	8
6. NUORODOS.....	8
7. DOKUMENTACIJA.....	10
8. KEITIMAI.....	10
9. PASKIRSTYMAS.....	10
10. PRIEDAI.....	10

VšĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra STERILUMO NUSTATYMAS KRAUJO KOMPONENTŲ PAKUOTĖSE ATLIEKANT PASĖLĮ RANKINIŲ METODU	LMC – ML P 02 -2013
		3 lapas
		Leidimas 1

1. PASKIRTIS

Ši procedūra skirta nustatyti tvarką ir reikalavimus, kaip ištirti sterilumą ar mikrobinį užteršimą kraujo komponentų pakuotėse, atliekant pasėlį rankiniu metodu. Tiriamieji kraujo komponentai: eritrocitų masė, trombocitų koncentratas, šviežiai šaldyta plazma.

Procedūra negali būti naudojama trombocitų koncentrato galiojimo laiko pratęsimui.

2. TAIKYMO SRITIS

Ši procedūra taikoma VšĮ Vilniaus universiteto ligoninių Santariškių klinikų Laboratorinės medicinos centre ir privaloma LMC M darbuotojams atliekantiems kraujo komponentų pakuotėse ir jų fragmentuose mikrobiologinius tyrimus, vertinantiems ir dokumentuojantiems rezultatus.

3. SANTRUMPOS, PAAIŠKINIMAI IR TERMINAI.

A – atsako

D – dalyvauja

EN – Europos norma

Ėminys – tiriamosios visumos dalis, paimta tirti arba bandyti; pagal paskirtį gali būti kontrolinis, tiriamasis, laboratorinis

ISO – tarptautinė standartizacijos organizacija

I – informuojamas

K – kontroliuoja

KLTR – klinikos laborantas tyrimų registratorius

Kraujo komponentai – eritrocitų masė, trombocitų koncentratas, šviežiai šaldyta plazma

KV – kokybės vadybininkas

LIS – laboratorijos informacijos sistema

LMG – laboratorinės medicinos gydytojas

LMC – Laboratorinės medicinos centras

LST – Lietuvos standartas

ML – Mikrobiologijos laboratorija

MASV – Medicininio audito skyriaus vedėjas

MI – mikrobiologijos laborantas

MM – medicinos mikrobiologas

PD – laboratorinės medicinos pagalbinis darbuotojas

Vyr.KL – laboratorinių tyrimų registratūros vyresnysis klinikos laborantas

Vyr. ord. – vyresnysis ordinatorius

VUL SK – VšĮ Vilniaus universiteto ligoninės Santariškių klinikos

VšĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra STERILUMO NUSTATYMAS KRAUJO KOMPONENTŲ PAKUOTĖSE ATLIEKANT PASĖLĮ RANKINIŲ METODU	LMC – ML P 02 -2013
		4 lapas
		Leidimas 1

3. ATSAKOMYBĖ

Darbuotojų atsakomybė atliekant procedūrą pateikta matricoje.

Veikla	Vykdotojas						
	Vyr. ord.	Vyr.KL	ML KV	LMG/ MM	KLTR	MI	PD
Darbuotojų apmokymas dirbti pagal procedūros reikalavimus	K	-	A	D	D	D	-
Kokybės kontrolės programos sudarymas ir atlikimas	K	-	A	D	-	D	-
Ėminių priėmimas ir duomenų registravimas į LIS	-	K	-	-	A	I	-
Laboratorijos įrangos tinkama priežiūra	A	-	D	A	-	A	D
Pirminiai kraujo komponentų pasėliai	-	-	K	I	-	A	-
Kontroliniai persėjimai ir identifikacinių testų atlikimas	-	-	-	K	-	A	-
Tyrimų rezultatų vertinimas	K	-	K	A	-	D	-
Tyrimų rezultatų registravimas į LIS	-	-	-	K	-	A	-
Spausdintų tyrimų rezultatų patvirtinimas spaudu ir parašu	K	-	-	A	-	A	-
Tyrimo užsakovo konsultavimas ir informavimas	A	D	A	A	D	D	-
Biologine medžiaga užterštų vienkartinį priemonių dėžių gabenimas į surinkimo vietą	-	-	K	-	-	-	A

5. APRAŠYMAS

5.1. Metodo principas

Metodas skirtas nustatyti kraujo komponentų produktų sterilumą arba mikrobinių užteršimą. Kraujo produktų bakterinis užteršimas yra viena anksčiausiai aprašytų potransfuzinių komplikacijų priežasčių. Bakterijų kiekis kraujo produkte paprastai yra labai mažas, todėl tiesioginių pasėlių metodai nėra pakankamai jautrūs joms aptikti. Šioje procedūroje aprašytas mikroorganizmų auginimo metodas gausinimo terpėje, atliekamas rankiniu būdu, patvirtintas 2007 m. Europos farmakopėjoje.

Tiriamieji kraujo komponentai sėjami į skystas gausinimo terpes: triptikazės sojos sultinį bei tioglikolinę terpę, praturtintą arklio serumu. Inkubacija vyksta 14 dienų. 2 ir 14 parą atliekami kontroliniai persėjimai

VšĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra STERILUMO NUSTATYMAS KRAUJO KOMPONENTŲ PAKUOTĖSE ATLIEKANT PASĖLĮ RANKINIŲ METODU	LMC – ML
		P 02 -2013
		5 lapas
		Leidimas 1

5.2. Ėminio surinkimas, pristatymo ir laikymo sąlygos

- 5.2.1. Už tiriamosios medžiagos pristatymą į laboratoriją, atsakingas užsakovas. Kraujo komponentų produktai gabenami gamintojo taroje. Užsakovas pristato visą nepažeistą pakuotę. Svarbu! Prieš mikrobiologinį tyrimą iš pakuotės negali būti imama kraujo komponentų produkto kitiems tyrimams, kad nebūtų pažeidžiama pakuotė.
- 5.2.2. Tiriamoji medžiaga turi būti pristatoma į LMC Laboratorinių tyrimų registratūrą Mikrobiologijos laboratorijos darbo valandomis: 7.00–17.30 val. darbo dienomis. Maksimalus transportavimo laikas: 2 val. transportuojant kambario temperatūroje; jei to padaryti neįmanoma – ėminys gali būti laikomas šaldytuve (+4–+8° C temperatūroje) iki 24 val. arba užšaldomas.
- 5.2.3. Ėminio atmetimo kriterijai:
 - 5.2.3.1. pažeista gaminio pakuotė;
 - 5.2.3.2. tiriamosios medžiagos kiekis < 4 ml;
 - 5.2.3.3. nesilaikyta transportavimo sąlygų reikalavimų.

5.3. Įranga reagentai ir priemonės

- 5.3.1. Įranga:
 - 5.3.1.1 Biologinės saugos boksas;
 - 5.3.1.2 Termostatas 36±1 ° C;
 - 5.3.1.3 Anaerostatas;
 - 5.3.1.4 Šviesinis mikroskopas, didinimas x1000.
- 5.3.2. Reagentai:
 - 5.3.2.1 Tioglikolinė terpė su arklio serumu, išpilstyta į mėgintuvėlius po 9 ml;
 - 5.3.2.2. Triptikazės sojos sultinys, išpilstytas į mėgintuvėlius po 9 ml;
 - 5.3.2.3. 5% kraujo agaras, išpilstytas į Petri lėkštes;
 - 5.3.2.4. Šedlerio agaras, išpilstytas į Petri lėkštes;
 - 5.3.2.5. Dažų rinkinys dažymui Gramo būdu.
- 5.3.3. Priemonės:
 - 5.3.3.1 Spiritinis degiklis;
 - 5.3.3.2. 96% etanolis;
 - 5.3.3.3. Žirklys;
 - 5.3.3.4. 70% etanolis;
 - 5.3.3.5. Vienkartinės sterilios 3 ml tūrio pipetės;
 - 5.3.3.6. Vienkartinės sterilios plastikinės kilpelės;
 - 5.3.3.7. Anaerobiozės generatoriai ir indikatoriai;
 - 5.3.3.8. Objektiniai ir dengiamieji stiklėliai;
 - 5.3.3.9. Vienkartinės pirštinės;
 - 5.3.3.10. Kartoninės bei plastikinės dėžės, išklotos skysčiams nepralaidžiais maišais, skirtos panaudotos biologinės medžiagos bei užterštų vienkartinių priemonių gabenimui nukenksminti.

VšĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra STERILUMO NUSTATYMAS KRAUJO KOMPONENTŲ PAKUOTĖSE ATLIEKANT PASĖLĮ RANKINIŲ METODU	LMC – ML
		P 02 -2013
		6 lapas
		Leidimas 1

5.4. Tyrimo eiga

- 5.4.1. Laboratorinių tyrimų registratūroje KL TR priima kraujo produktų pakuotes ir registruoja duomenis į LIS.
- 5.4.2. Prieš atliekant pirminį pasėlį, ML patikrina tioglikolinės terpės kokybę; jei rezazurino sluoksnis didesnis negu 1/3 terpės tūrio, tioglikolinė terpė regeneruojama 5 min. pamerkiant į verdančio vandens vonią, po to atšaldoma.
- 5.4.3. Pirminis pasėlis: biologinės saugos bokse kraujo komponentų pakuotės žarnelė dezinfekuojama 70% etanoliu. Liepsna sterilizavus žirkles, nukerpamas žarnelės galiukas ir reikiamas medžiagos kiekis sėjamas tiesiog į mėgintuvėlius su terpėmis, kiekvieną kartą mėgintuvėlių kaklelius sterilizuojant liepsna.
- 5.4.4. Pirminis pasėlis: po 1 ml tiriamosios medžiagos, sėjama į 4 mėgintuvėlius: 2 mėgintuvėlius su 9 ml tioglikolinės terpės (1:10) ir 2 mėgintuvėlius su 9 ml triptikazės-sojos sultinio terpės (1:10).
- 5.4.5. Pasėliai inkubuojami 14 parų $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. Kiekvieną dieną vizualiai vertinama, ar nėra bakterijų augimui būdingo susidrumstimo gausinimo terpėse.
- 5.4.6. Kontroliniai pasėliai: atliekami po 2 ir po 14 parų iš gausinimo terpių į standžiąsias terpes Petri lėkštelėse: 5% kraujo agarą, Šedlerio agarą, nes dėl kraujo komponentų buvimo gausinimo terpėje, ne visada galima objektyviai įvertinti skystos terpės susidrumstimą.
- 5.4.7. Atlikus kontrolinį pasėlį, po 20 val. ir 48 val. inkubacijos $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ temperatūroje vertinamas bakterijų augimas standžioje terpėje.
- 5.4.8. Aptikus susidrumstimą gausinimo terpėje, mikroskopuojamas tepinėlis, dažytas Gramo būdu. Mikroskopijos rezultatai nedelsiant pranešami užsakovui telefonu.
- 5.4.9. Aptikus augimą standžioje terpėje, vertinama išaugintų kolonijų morfologija, mikroskopuojamas tepinėlis, dažytas Gramo būdu. Išankstiniai rezultatai nedelsiant pranešami užsakovui telefonu.
- 5.4.10. Išauginti mikroorganizmai identifikuojami iki rūšies bendraisiais mikrobiologiniais metodais (mikroskopija, mikroorganizmo augimo bei fermentacinių savybių tyrimai, mikroorganizmo antigeninės struktūros tyrimai agliutinacijos testais). Metodus pasirenkamas pagal tikėtiną mikroorganizmo rūšį, atlikus mikroskopinį tyrimą.
- 5.4.11. Identifikavimo metodai ir jų pasirinkimo algoritmai aprašomi mikroorganizmų identifikavimo procedūrose.
- 5.4.12. Biologinė medžiaga bei užterštos vienkartinės priemonės surenkamos ir gabenamos nukenksminti laikantis VUL SK generalinio direktoriaus 2008 m. kovo 18 d. įsakymo Nr. V-149 „Dėl medicininių atliekų tvarkymo reikalavimų“ nuostatų.

VŠĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra STERILUMO NUSTATYMAS KRAUJO KOMPONENTŲ PAKUOTĖSE ATLIEKANT PASĖLĮ RANKINIŲ METODU	LMC – ML P 02 -2013
		7 lapas
		Leidimas 1

5.5. Rezultatų interpretavimas

Sterilu – jei tiriamoji medžiaga pasėlyje po 14 parų inkubacijos, nesudrumstė terpių, atliekant kontrolinius išsėjimus per 48 val. augimo nebuvo.

Mikrobinis užteršimas – 14 parų laikotarpyje aptikus bet kokį augimą. Įvardijama išskirto mikroorganizmo rūšis.

5.6. Kokybės kontrolė

5.6.1. Neigiama tyrimo kontrolė atliekama kiekvieną dieną, kai pradedami nauji tyrimai: 14 parų, lygiagrečiai su tiriamosios medžiagos pasėliais $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ temperatūroje tame pačiame termostate inkubuojamos tos pačios paruošimo serijos 1 mėgintuvėlis neužsėtos tioglikolinės terpės ir 1 mėgintuvėlis neužsėtos triptikazės-sojos sultinio terpės. 14 parų laikotarpyje stebima, ar nėra susidrumstimo. Rezultatai žymimi Sanitarinių tyrimų registracijos žurnale.

5.6.2. Terpių sterilumo kontrolė – atliekama kiekvienai pagamintai terpių serijai. Tikrinama 5% pagamintos terpės. Tioglikolinė ir triptikazės sojos sultinio terpės inkubuojamos 7 paras $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. Po 7 parų stebima, ar nėra susidrumstimo. Rezultatai žymimi terpių kokybės kontrolės protokoluose (žr. Priedai)

5.6.3. Terpių veiklumo ir regeneracinių savybių kontrolė – atliekama kiekvienai pagamintai terpių serijai. Tikrinama 5% pagamintos terpės. Tioglikolinės terpės ir triptikazės sojos sultinio terpės tiriamos, norint nustatyti jų regeneracines savybes, t.y. sugebėjimą trijų parų laikotarpyje $30\text{--}36^{\circ}\text{C}$ temperatūroje, aerobinėse sąlygose, užauginti bakterijas, užsėjus itin mažą bakterijų ląstelių kiekį ($10\text{--}100$ ląstelių) į mėgintuvėlį su 10 ml tiriamosios terpės. Kontrolinės bakterijų padermės praskiedimai atliekami pradedant praskiedimus nuo 0,5 McFarlando standarto drumstumo suspensijos, kurios bakterijų kiekis 1 ml yra $1,5\times 10^8$ KFU. Bakterijų augimas vertinamas keturių pliusų sistema. Kontrolei naudojamos mikroorganizmų padermės:

S. aureus ATCC 25923

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853

Candida albicans ATCC 90028

Clostridium perfringens ATCC 13124

Bacillus subtilis

Aspergillus niger

Rezultatai žymimi terpių kokybės kontrolės protokoluose (žr. A ir B priedus).

5.6.4. Fizikinių terpių savybių kontrolė (spalvos, konsistencijos, pH) atliekama kiekvienai pagamintai terpių serijai. Rezultatai žymimi terpių kokybės kontrolės protokoluose (žr. A ir B priedus).

5.6.5. M 2 kartus per metus dalyvauja išorinės kokybės kontrolės programoje „Bendroji mikrobiologija, aerobai ir anaerobai“, bei 2 kartus per metus programoje „Grybų kultūra“. 1 kartą į metus atliekama išorinės kokybės

VŠĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra STERILUMO NUSTATYMAS KRAUJO KOMPONENTŲ PAKUOTĖSE ATLIEKANT PASĖLĮ RANKINIŲ METODU	LMC – ML P 02 -2013
		8 lapas
		Leidimas 1

kontolės rezultatų analizė, protokoluojama formoje „Mikrobiologinių išorinės kokybės kontrolės tyrimų rezultatų apibendrinimas“ (žr. Procedūrą „Pasėlis nuo paruoštos venos punkcijai donoro rankos odos“)

5.7. Galimos neatitikčių priežastys:

- 5.7.1. Pažeista gaminio pakuotė – gaunamas klaidingai teigiamas rezultatas;
- 5.7.2. Per mažas tiriamosios medžiagos kiekis (< 4 ml) – gaunamas klaidingai neigiamas rezultatas.

5.8. Rezultatų dokumentavimas ir perdavimas užsakovui

- 5.8.1. Informaciją apie gautus ėminius į LIS registruoja KL TR Laboratorinių tyrimų registratūroje.
- 5.8.2. Tyrimo darbo eiga dokumentuojama ML Sanitarinių tyrimų registracijos žurnale (žr. C priedą).
- 5.8.3. Aptikus bet kokį augimą, informacija apie mikroskopijos rezultatus nedelsiant perduodama telefonu tyrimo užsakovui: 1) VUL Santariškių klinikų Kraujo centro gydytojams arba 2) Nacionalinio kraujo centro Kokybės užtikrinimo skyriaus vedėjui (užsakovo duomenys nurodyti tyrimo lydraštyje).
- 5.8.4. Užbaigus tyrimą, išrašomas atsakymo protokolas: Mikrobiologinis taršos ir sterilumo tyrimas, kuris atiduodamas į Laboratorinių tyrimų registratūrą.
- 5.8.5. Atsakymo protokolą pasirašo du darbuotojai: MM/LMG ir ML.
- 5.8.6. Tyrimo rezultatus į LIS registruoja ML.
- 5.8.7. Užsakovui pageidaujant, išduodamas atsakymo dublikatas, išspausdinus registruotus LIS rezultatus.
- 5.8.8. Atsakymo „Sterilu“ išrašymo terminas – 16 dienų nuo tiriamosios medžiagos pristatymo į laboratoriją.
- 5.8.9. Atsakymo „Mikrobinis užteršimas“ išrašymo terminas – ne daugiau 5 dienų nuo bakterijų augimo detekcijos. Išankstinių augimo rezultatų perdavimas telefonu – tos pačios darbo dienos bėgyje, kai aptinkamas mikroorganizmu augimas ir atliekamas mikroskopinis tyrimas

6. NUORODOS

- 6.1. LST EN ISO 15189:2007 „Medicinos laboratorijos. Ypatingieji kokybės ir kompetencijos reikalavimai“.
- 6.2. LST EN ISO 9001:2008 „Kokybės vadybos sistemos. Reikalavimai“.
- 6.3. LST EN ISO 9000:2007 „Kokybės vadybos sistemos. Pagrindai ir aiškinamasis žodynas“.
- 6.4. LST EN ISO 9004:2009 „Kokybės vadybos sistemos. Veiklos gerinimas. Rekomendacijos“.

VšĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra STERILUMO NUSTATYMAS KRAUJO KOMPONENTŲ PAKUOTĖSE ATLIEKANT PASĖLĮ RANKINIŲ METODU	LMC – ML P 02 -2013
		9 lapas
		Leidimas 1

- 6.5. LST CEN ISO/TS 11133-2:2005 Maisto ir pašarų mikrobiologija. Mitybos terpių ruošimo ir gamybos gairės. 2 dalis. Mitybos terpių veiksmingumo tyrimo praktinės gairės.
- 6.6. CSN EN 12322 - In vitro diagnostic medical devices - Culture media for microbiology - Performance criteria for culture media.
- 6.7. Sveikatos apsaugos ministro 2007 m. gruodžio 5 d. įsakymas Nr. V-998 „Dėl asmens sveikatos priežiūros įstaigų laboratorijų veiklos vertinimo“ (Žin., 2007, Nr. 131-5311, su pakeitimais).
- 6.8. Sveikatos apsaugos ministro 2001 m. lapkričio 20 d. įsakymas Nr. 605 „Dėl bendrųjų kraujo komponentų gamybos sterilumo kontrolės reikalavimų patvirtinimo“ (Žin., 2001, Nr. 99-3564).
- 6.9. Sveikatos apsaugos ministro 2012 m. lapkričio 22 d. įsakymas Nr. V-1063 „Dėl kraujo donorystės įstaigų ir ligoninių kraujo bankų geros praktikos nuostatų patvirtinimo“ (Žin., 2012, Nr. 139-7132).
- 6.10. Sveikatos apsaugos ministro 1999 m. lapkričio 29 d. įsakymas Nr. 515 „Dėl sveikatos priežiūros įstaigų veiklos apskaitos ir atskaitomybės tvarkos“ (Žin., 1999, Nr. 103–2972; Žin., 1999, Nr. 105, su pakeitimais).
- 6.11. Sveikatos apsaugos ministro 2008 m. balandžio 29 d. įsakymas Nr. V-338 „Dėl Minimalių asmens sveikatos priežiūros paslaugų kokybės reikalavimų aprašo tvirtinimo“ (Žin., 2008, Nr. 53-1992, su pakeitimais).
- 6.12. Sveikatos apsaugos ministro 2008 m. kovo 4 d. įsakymas Nr. V-168 „Dėl Lietuvos medicinos normos MN 70:2008 „Laboratorinės medicinos gydytojas. Teisės, pareigos, kompetencija ir atsakomybė“ patvirtinimo“ (Žin., 2008, Nr. 35–1248).
- 6.13. Sveikatos apsaugos ministro 2008 m. kovo 4 d. įsakymas Nr. V-169 „Dėl Lietuvos medicinos normos MN 68:2008 „Medicinos biologas. Teisės, pareigos, kompetencija ir atsakomybė“ patvirtinimo“ (Žin., 2008, Nr. 35–1249).
- 6.14. Sveikatos apsaugos ministro 1999 m. sausio 6 d. įsakymas Nr. 5 „Dėl Lietuvos medicinos normos MN 69:1999 „Klinikos laborantas. Pareigos, teisės ir atsakomybė“ tvirtinimo“ (Žin., 1999, Nr. 5–123).
- 6.15. VULSK Vidaus taisyklės.
- 6.16. VULSK Darbo tvarkos taisyklės.
- 6.17. VULSK generalinio direktoriaus 2008-06-04 įsakymas Nr. V-315 „Dėl nepageidaujamų įvykių privalomo registravimo“.
- 6.18. VULSK generalinio direktoriaus 2009 m. birželio 17 d. įsakymas Nr. V-326 „Dėl Higienos taisyklių tvirtinimo“.
- 6.19. VULSK generalinio direktoriaus 2009 m. liepos 3 d. įsakymas Nr. V-362 „Dėl Pirštinių naudojimo tvarkos tvirtinimo“.
- 6.20. VULSK generalinio direktoriaus 2008 m. kovo 18 d. įsakymas Nr. V-149 „Dėl medicininių atliekų tvarkymo reikalavimų“.
- 6.21. VULSK generalinio direktoriaus 2011 m. birželio 7 d. įsakymas Nr. V-289 „Dėl Laboratorinės diagnostikos centro laboratorinių tyrimų siuntimo formų tvirtinimo“.
- 6.22. VULSK generalinio direktoriaus 2007 m. kovo 2 d. įsakymas Nr. V-133 „Dėl registracijos žurnalų Laboratorinės diagnostikos centre tvirtinimo“.

VšĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra STERILUMO NUSTATYMAS KRAUJO KOMPONENTŲ PAKUOTĖSE ATLIEKANT PASĖLĮ RANKINIŲ METODU	LMC – ML P 02 -2013
		10 lapas
		Leidimas 1

- 6.23. VULSK Laboratorinės medicinos centro Mikrobiologijos laboratorijos darbuotojų pareigų instrukcijos.
- 6.24. VUL SK Laboratorinės medicinos centro darbuotojų darbų saugos instrukcijos.
- 6.25. P01-2005 „KVS dokumentų parengimas ir valdymas“.
- 6.26. P05-2005 „Kokybės duomenų įrašų valdymas“.
- 6.27. P03-2011 „Neatitikčių valdymas. Korekciniai ir prevenciniai veiksmai“.
- 6.28. EUROPEAN PHARMACOPEIA 01/2007:20627 Microbiological control of cellular products psl.,4414.
- 6.29. Clinical Microbiology Procedures Handbook.
- 6.30. BD TMFluid Thioglycollate Medium (FTM).

7. DOKUMENTACIJA

- 7.1. Sanitarinių tyrimų registracijos žurnalas;
- 7.2. Neatitikčių registravimo žurnalas;
- 7.3. Nepageidaujamų įvykių registravimo žurnalas;
- 7.4. Mikrobiologinis taršos ir sterilumo tyrimas;
- 7.5. Terpių kokybės kontrolės protokolas „Tryptikazės sojos sultinio terpės kokybės kontrolė“;
- 7.6. Terpių kokybės kontrolės protokolas „Tioglikolinės terpės kokybės kontrolė“.

8. KEITIMAI

Šios P keitimus atlieka rengėjas pagal P01-2005 „KVS dokumentų parengimas ir valdymas“ reikalavimus.

9. PASKIRSTYMAS

Šios procedūros originalas saugomas pas MASV, kopijos po vieną įteikiamos LMC direktoriui bei LMC ML vyr. ordinatoriui. Kiti su procedūra susipažįsta elektroninėje laikmenoje INTRANET SANTA.

10. PRIEDAI

- A priedas. Tryptikazės sojos sultinio terpės kokybės kontrolė.
- B priedas. Tioglikolinės terpės kokybės kontrolė.
- C priedas. Sanitarinių tyrimų registracijos žurnalas.

VšĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra STERILUMO NUSTATYMAS KRAUJO KOMPONENTŲ PAKUOTĖSE ATLIEKANT PASĖLĮ RANKINIŲ METODU	LMC – ML
		P 02 -2013
		11 lapas
		Leidimas 1

A priedas

PATVIRTINTA
VšĮ VUL Santariškių klinikų
Generalinio direktoriaus
2013 m. d.
Įsakymu Nr. V- 127

TRIPTIKAZĖS SOJOS SULTINIO TERPĖS KOKYBĖS KONTROLĖ

Protokolo Nr.....

Už terpių gamybą atsakingas asmuo.....

Gamybos data.....

Partijos Nr.....

1. Fizinės ir cheminės savybės

Kiekis, ml.....

Ph.....

Terpės spalva, skaidrumas

2. Sterilumo kontrolė. Tikrinama 5% pagamintos terpės. Inkubuojama 7 paras (36±1°C)

Mėgintuvėlių kiekis

- | | |
|----|-----|
| 1. | 6. |
| 2. | 7. |
| 3. | 8. |
| 4. | 9. |
| 5. | 10. |

3. Mikrobiologinė kontrolė. Terpės veiklumo ir regeneracinių savybių tikrinimas
Inkubuojama 3 paras (36±1°C)

Kontrolinės padermės	Augimo rezultatai	
	1,5x10 ⁸ KFV	1,5x10 ² KFV
<i>S.aureus</i> ATCC 25923		
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853		
<i>C.albicans</i> ATCC 10231		
<i>A. niger</i>		
<i>B. subtilis</i>		
Neinokuliuota		

++++ pilnas susidrumstimas

+++ pilnas susidrumstimas

++ nedidelis susidrumstimas

+ įtariamas susidrumstimas (būtina persėti į standžias terpes)

Išvada.....

Kontrolės atlikimo data.....

Atsakingas asmuo.....

VšĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra	LMC – ML
	STERILUMO NUSTATYMAS KRAUJO	P 02 -2013
	KOMPONENTŲ PAKUOTĖSE ATLIEKANT	12 lapas
	PASĖLĮ RANKINIŲ METODU	Leidimas 1

B priedas

PATVIRTINTA
VšĮ VUL Santariškių klinikų
Generalinio direktoriaus
2013 m. 04 36 d
Įsakymu Nr. V-228

TIOGLIKOLINĖS TERPĖS KOKYBĖS KONTROLĖ

Protokolo Nr.

Už terpių gamybą atsakingas asmuo.

Gamybos data.

Partijos Nr.

1. Fizinės ir cheminės savybės

Kiekis, ml.

Ph.

Terpės spalva, skaidrumas

2. Sterilumo kontrolė. Tikrinama 5% pagamintos terpės. Inkubuojama 7 paras (36±1°C)

Mėgintuvėlių kiekis

- | | |
|----|-----|
| 1. | 6. |
| 2. | 7. |
| 3. | 8. |
| 4. | 9. |
| 5. | 10. |

3. Mikrobiologinė kontrolė. Terpės veiklumo ir regeneracinių savybių tikrinimas Inkubuojama 3 paras (36±1°C)

Kontrolinės padermės	Augimo rezultatai	
	1,5x10 ⁸ KfV	1,5x10 ² KfV
<i>S.aureus</i> ATCC 25923		
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853		
<i>C.perfringens</i> ATCC 13124		
<i>C.albicans</i> ATCC 10231		
Neinokuliuota		

+++ pilnas susidrumstimas

+++ pilnas susidrumstimas

++ nedidelis susidrumstimas

+ įtariamas susidrumstimas (būtina persėti į standžias terpes)

Išvada.

Kontrolės atlikimo data.

Atsakingas asmuo.

VšĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra STERILUMO NUSTATYMAS KRAUJO KOMPONENTŲ PAKUOTĖSE ATLIEKANT PASĖLĮ RANKINIŲ METODU	LMC – ML P 02 -2013
		14 lapas
		Leidimas 1

PASTABOS, PASIŪLYMAI, DERINIMAI

Eil. Nr.	Skyrius	Pastabos ir pasiūlymai (nurodyti punktą, siūlymą arba suderinta be pakeitimų)	Padalinio vadovo parašas
1	2	3	4
1.			
2.			
3.			
4.			
5.			
6.			

VšĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra	LMC – ML
	STERILUMO NUSTATYMAS KRAUJO	P 02 -2013
	KOMPONENTŲ PAKUOTĖSE ATLIEKANT	16 lapas
	PASĖLĮ RANKINIŲ METODU	Leidimas 1

PROCEDŪROS KEITIMŲ REGISTRACIJA

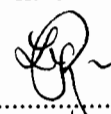
[illegible]

VšĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra PASĖLIS NUO PARUOŠTOS VENOS PUNKCIJAI DONORO RANKOS ODOS	LMC – ML P 03 -2013
		1 lapas
		Leidimas 1

PASĖLIS NUO PARUOŠTOS VENOS PUNKCIJAI DONORO RANKOS ODOS

Egzempliorius Nr.

Dokumentas konfidencialus,
dauginimas be Medicininio
audito skyriaus vedėjo
leidimo draudžiamas

Parengė: Rūta Ambrazaitienė LMC Mikrobiologijos laboratorijos vyr. ordinatorė Parašas:  Data: 2013-04-29	Tikrino: Zita Aušrelė Kučinskienė LMC Direktorė  Parašas:  Data: 2013-04-29	Patvirtinta VšĮ VUL SK Generalinio direktoriaus Įsakymu Nr. V-557 Data: 2013-01-30
--	--	--

VšĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra PASĖLIS NUO PARUOŠTOS VENOS PUNKCIJAI DONORO RANKOS ODOS	LMC – ML P 03 -2013
		2 lapas
		Leidimas 1

Turinys

1. PASKIRTIS.....	3
2. TAIKYMO SRITIS.....	3
3. SANTRUMPOS IR PAAIŠKINIMAI.....	3
4. ATSAKOMYBĖ.....	4
5. APRAŠYMAS.....	4
5.1 Metodo principas.....	4
5.2 Ėminio surinkimas, pristatymo ir laikymo sąlygos.....	4
5.3 Įranga, reagentai ir priemonės.....	5
5.4 Tyrimo eiga.....	5
5.5 Rezultatų interpretavimas.....	6
5.6 Kokybės kontrolė.....	6
5.7 Galimos neatitikčių priežastys.....	7
5.8 Rezultatų dokumentavimas ir perdavimas užsakovui.....	7
6. NUORODOS.....	7
7. DOKUMENTACIJA.....	9
8. KEITIMAI.....	9
9. PASKIRSTYMAS.....	9
10. PRIEDAI.....	10

VšĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra PASĖLIS NUO PARUOŠTOS VENOS PUNKCIJAI DONORO RANKOS ODOS	LMC – ML P 03 -2013
		3 lapas
		Leidimas 1

1. PASKIRTIS

Ši procedūra skirta nustatyti tvarką ir reikalavimus, kaip įvertinti kraujo donoro odos, paruoštos venos punkcijai, dezinfekcijos kokybę atliekant mikrobiologinį pasėlį.

2. TAIKymo SRITIS

Ši procedūra taikoma VšĮ Vilniaus universiteto ligoninės Santariškių klinikų Laboratorinės medicinos centre ir privaloma LMC darbuotojams, priimančioms ir registruojantiems į LIS ėminius, atliekantiems sanitarinius mikrobiologinius tyrimus, vertinantiems ir dokumentuojantiems rezultatus.

3. SANTRUMPOS, PAAIŠKINIMAI IR TERMINAI

A – atsako

D – dalyvauja

EN – Europos norma

Ėminys – tiriamosios visumos dalis, paimta tirti arba bandyti; pagal paskirtį gali būti kontrolinis, tiriamasis, laboratorinis

ISO – tarptautinė standartizacijos organizacija

I – informuojamas

K – kontroliuoja

KLTR – klinikos laborantas tyrimų registratorius

KV – kokybės vadybininkas

LIS – laboratorijos informacijos sistema

LMC – Laboratorinės medicinos centras

LMG – laboratorinės medicinos gydytojas

LST – Lietuvos standartas

MASV – Medicininio audito skyriaus vedėjas

ML – Mikrobiologijos laboratorija

MI – mikrobiologijos laborantas

MM – medicinos mikrobiologas

PD – laboratorinės medicinos pagalbinis darbuotojas

pH – vandenilio jonų koncentracijos neigiamas logaritmas, vartojamas apibūdinti tiriamojo substrato rūgštingumui

SL – kraujo centro slaugos darbuotojas

Vyr.KL – laboratorinių tyrimų registratūros vyresnysis klinikos laborantas

Vyr. ord. – vyresnysis ordinatorius

VUL SK – VšĮ Vilniaus universiteto ligoninės Santariškių klinikos

4. ATSAKOMYBĖ

Darbuotojų atsakomybė atliekant procedūrą pateikta matricioje.

VšĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra PASĖLIS NUO PARUOŠTOS VENOS PUNKCIJAI DONORO RANKOS ODOS	LMC – ML P 03 -2013
		4 lapas
		Leidimas 1

Veikla	Vykdotojas							
	Vyr. ord.	Vyr KL	ML KV	LMG /MM	KL TR	MI	PD	SL
Darbuotojų apmokymas dirbti pagal procedūros reikalavimus	K	-	A	D	D	D	-	-
Kokybės kontrolės programos sudarymas ir atlikimas	K	-	A	D	-	D	-	-
Ėminio paėmimas	K	-	-	-	-	-	-	A
Ėminių priėmimas ir duomenų registravimas į LIS	-	K	-	-	A	I	-	-
Laboratorijos įrangos tinkama priežiūra	A	-	D	A	-	A	D	-
Pirminis ėminio pasėlis	-	-	K	I	-	A	-	-
Kontroliniai persėjimai ir identifikacinių testų atlikimas	-	-	-	K	-	A	-	-
Tyrimų rezultatų vertinimas	K	-	K	A	-	D	-	-
Tyrimų rezultatų registravimas į LIS	-	-	-	K	-	A	-	-
Spausdintų tyrimų rezultatų patvirtinimas spaudu ir parašu	K	-	-	A	-	A	-	-
Tyrimo užsakovo konsultavimas ir informavimas	A	D	A	A	D	D	-	-
Biologine medžiaga užterštų vienkartinį priemonių dėžių gabenimas į surinkimo vietą	-	-	K	-	-	-	A	-

5. APRAŠYMAS

5.1. Metodo principas

Dažniausias kraujo komponentų produktų mikrobiologinio užteršimo šaltinis – mikroorganizmai, esantys ant kraujo donoro odos, patenkantys į produktą duriant adata į veną. Nepaisant odos dezinfekcijos, dalis mikroorganizmų ant odos gali išgyventi ir kraujo paėmimo metu užteršti kraujo produktus. Procedūroje aprašomas pasėlis plovinių metodu. Plovinys imamas steriliu tamponėliu nuo rankos odos ir sėjamas į agarą bei gausinimo terpę. Terpės inkubuojamos termostate 48 val. Po inkubacijos vertinamas išaugusių kolonijų skaičius agare ir augimas gausinimo terpėje.

5.2. Ėminio surinkimas, pristatymo ir laikymo sąlygos

5.2.1. Pasėlius nuo donoro odos ima apmokytos Kraujo centro slaugytojos. Pasėlių paėmimo priemonėmis aprūpina LMC ML.

5.2.2. Pasėlio paėmimas:

VšĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra PASĖLIS NUO PARUOŠTOS VENOS PUNKCIJAI DONORO RANKOS ODOS	LMC – ML P 03 -2013
		5 lapas
		Leidimas 1

- 5.2.2.1. Imant plovinį: donoro ranka dezinfekuojama taip, kaip tai įprastai atliekama prieš venos punkciją. Palaukiama 1–2 minutes, kol dezinfekcinis skystis išdžius. Imamas mėgintuvėlis su steriliu izotoniniu NaCl tirpalu ir steriliu tamponėliu. Tamponėlis suvilgomas tirpale ir 20 sekundžių braukomas 4x5 cm fossa antecubitalis odos plote. Tamponėlis įkišamas į mėgintuvėlį. Mėgintuvėlis paženklinamas, užklijuojant ELI sistemos lipduką su donoro vardu ir pavarde, gimimo data, kortelės numeriu bei brūkšninio kodu.
- 5.2.3. Tamponėliai mėgintuvėliuose pristatomi į LMC Laboratorinių tyrimų registratūrą darbo dienomis 7.00–17.30 val. Maksimalus transportavimo laikas 15 min. kambario temperatūroje.
- 5.2.4. Ėminio atmetimo kriterijai:
- 5.2.4.1. Nesilaikyta transportavimo sąlygų

5.3. Įranga, reagentai ir priemonės

- 5.3.1. Įranga:
- 5.3.1.1. Biologinės saugos boksas;
- 5.3.1.2. Termostatas 36 ± 1 °C;
- 5.3.1.3. Šviesinis mikroskopas, didinimas x1000.
- 5.3.2. Reagentai:
- 5.3.2.1. Sterili tioglikolinė gausinimo terpė su arklio serumu, išpilstyta į mėgintuvėlius po 9 ml;
- 5.3.2.2. Sterilus izotoninis NaCl tirpalas, išpilstytas į mėgintuvėlius po 2 ml;
- 5.3.2.3. Kolumbijos agaras su 5% kraujo, išpilstytas į Petri lėkšteles;
- 5.3.2.4. Dažų rinkinys dažymui Gramo būdu.
- 5.3.3. Priemonės:
- 5.3.3.1. Sterilūs vatos tamponėliai mėgintuvėliuose plastikiniu koteliu;
- 5.3.3.2. Vienkartinės sterilios plastikinės kilpelės;
- 5.3.3.3. Objektiniai ir dengiamieji stikleliai;
- 5.3.3.4. Vienkartinės pirštinės;
- 5.3.3.5. Kartoninės bei plastikinės dėžės, išklotos skysčiams nepralaidžiais maišais, skirtos panaudotos biologinės medžiagos bei užterštų vienkartinių priemonių gabenimui nukenksminti.

5.4. Tyrimo eiga

- 5.4.1. Tamponu paimta medžiaga biologinės saugos bokse išsėjama į Kolumbijos agarą su 5% kraujo bei į tioglikolinę gausinimo terpę. Užsėtos terpės talpinamos į (36 ± 1) °C temperatūros termostatą;
- 5.4.2. Po 24 val. ir 48 val. inkubacijos (36 ± 1) °C temperatūroje, LMG arba MM vertina bakterijų augimą agare ir gausinimo terpėje;
- 5.4.3. Po 48 val. inkubacijos biologinės saugos bokse atliekamas tioglikolinės terpės persėjimas į Kolumbijos agarą su 5% kraujo;

VšĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra PASĖLIS NUO PARUOŠTOS VENOS PUNKCIJAI DONORO RANKOS ODOS	LMC – ML P 03 -2013
		6 lapas
		Leidimas 1

- 5.4.4. Persėto mėginio augimas Kolumbijos agare su 5% kraujo vertinamas dar po 24 val. inkubacijos;
- 5.4.5. Aptikus susidrumstimą gausinimo terpėje, mikroskopuojamas tepinėlis, dažytas Gramo būdu. Mikroskopijos rezultatai nedelsiant pranešami užsakovui telefonu;
- 5.4.6. Aptikus augimą standžioje terpėje, vertinama išaugintų kolonijų morfologija, mikroskopuojamas tepinėlis, dažytas Gramo būdu. Išankstiniai rezultatai nedelsiant pranešami užsakovui telefonu;
- 5.4.7. Išauginti mikroorganizmai identifikuojami iki rūšies bendraisiais mikrobiologiniais metodais (mikroskopija, mikroorganizmo augimo bei fermentacinių savybių tyrimai, mikroorganizmo antigeninės struktūros tyrimai agliutinacijos testais).

5.5. Rezultatų interpretavimas

- 5.5.1. Jei neaptinkama augimo standžioje terpėje bei gausinimo terpėje, atiduodamas atsakymas „Bakterijų augimo nerasta“;
- 5.5.2. Aptikus mikroorganizmų augimą, rezultatai vertinami taip:
 - 5.5.2.1. esant augimui tiesioginiame pasėlyje į agarą, skaičiuojamos mikroorganizmų kolonijos: iki 10 kolonijų nurodomas tikslus kolonijų skaičius; nuo 10 kolonijų, gausumas įvardijamas „>10 kolonijų“;
 - 5.5.2.2. jei auga itin mažas mikroorganizmų kiekis, aptinkamas tik juos pagausinus tioglikolinėje terpėje, gausumas įvardijamas: „Iš gausinimo terpės“.
- 5.5.3. Įvardijama išskirto mikroorganizmo rūšis.
- 5.5.4. Interpretacija: geras rezultatas, kai neaptinkama mikroorganizmų augimo. Reti negausaus mikroorganizmų augimo (<10 kolonijų agaro lėkštelėje) atvejai pasitaiko, nepaisant kokybiško odos paruošimo venos punkcijai. Taip yra todėl, kad odos paruošimas venos punkcijai yra dezinfekcijos, o ne sterilizacijos procesas.

5.6. Kokybės kontrolė

- 5.6.1. Tioglikolinės terpės kokybės kontrolės (sterilumo, regeneracinių savybių, fizikinių savybių nustatymo) atlikimas reglamentuotas procedūroje „Sterilumo nustatymas kraujo komponentų pakuotėse atliekant pasėlį rankiniu metodu“. Rezultatai registruojami į formą „Tioglikolinės terpės kokybės kontrolė“ (žr. Procedūrą „Sterilumo nustatymas kraujo komponentų pakuotėse atliekant pasėlį rankiniu metodu“).
- 5.6.2. Kolumbijos agaro su 5% kraujo kokybės kontrolė:
 - 5.6.2.1. Išplėstinės kontrolės metu tikrinama: 1) terpės sterilumas, 2) santykinis kontrolinės mikroorganizmo padermės augimo indeksas Mossel ekometrinio būdu, 3) fizikinės savybės (terpės pH, agaro lėkštelėje storis ir masė, terpės spalva). Atlikimo periodiškumas – kiekvieną kartą, kai gaunami naujos serijos terpės paruošimui skirti milteliai. Rezultatai registruojami į formą Mitybinės terpės (lėkštelėse) kokybės kontrolė (žr. A priedą).

VŠĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra PASĖLIS NUO PARUOŠTOS VENOS PUNKCIJAI DONORO RANKOS ODOS	LMC – ML P 03 -2013
		7 lapas
		Leidimas 1

- 5.6.2.2. Augimo kontrolė: tikrinamas kontrolinės mikroorganizmo padermės gebėjimas augti terpėje. Atlikimo periodiškumas: po kiekvieno terpės išpilstymo į laikmenas. Rezultatai registruojami į formą Terpės augimo kontrolė (žr. B priedą).
- 5.6.2.3. Išplėstinei bei augimo kontrolei naudojama pamatinė medžiaga: etaloninė mikroorganizmo padermė *S.pneumoniae* ATCC 49619.
- 5.6.2.4. Sterilumo kontrolė: tikrinamas terpės sterilumas, inkubuojant neužsėtas lėkšteles 48 val. $36\pm 1^{\circ}\text{C}$. Atlikimo periodiškumas: po kiekvieno terpės išpilstymo į laikmenas. Rezultatai registruojami į formą Terpės sterilumo kontrolė (žr. C priedą).
- 5.6.3. ML 2 kartus per metus dalyvauja išorinės kokybės kontrolės programoje „Bendroji mikrobiologija, aerobai ir anaerobai“, bei 2 kartus per metus programoje „Grybų kultūra“. 1 kartą į metus atliekama išorinės kokybės kontrolės rezultatų analizė, protokoluojama formoje Mikrobiologinių išorinės kokybės kontrolės tyrimų rezultatų apibendrinimas (žr. D priedą).

5.7. Galimos neatitikčių priežastys

- 5.7.1. Nesilaikyta ėminio paėmimo bei transportavimo sąlygų.

5.8. Rezultatų dokumentavimas ir perdavimas užsakovui

- 5.8.1. Informaciją apie gautus ėminius į LIS registruoja KL TR Laboratorinių tyrimų registratūroje.
- 5.8.2. Tyrimo darbo eiga dokumentuojama ML Sanitarinių tyrimų registracijos žurnale.
- 5.8.3. Aptikus bet koki augimą, informacija apie mikroskopijos rezultatus nedelsiant perduodama telefonu VUL Santariškių klinikų Kraujo centro gydytojams.
- 5.8.4. Užbaigus tyrimą, išrašomas atsakymo protokolas: Mikrobiologinis taršos ir sterilumo tyrimas, kuris atiduodamas į Laboratorinių tyrimų registratūrą.
- 5.8.5. Atsakymo protokolą pasirašo du darbuotojai: MM/LMG ir ML.
- 5.8.6. Tyrimo rezultatus į LIS registruoja ML.
- 5.8.7. Užsakovui pageidaujant, išduodamas atsakymo dublikatas, išspausdinus registruotus LIS rezultatus.
- 5.8.8. Atsakymo „Bakterijų augimo nerasta“ išrašymo terminas – 4 dienos nuo tiriamosios medžiagos pristatymo į laboratoriją.
- 5.8.9. Atsakymo esant mikroorganizmų augimui išrašymo terminas – ne daugiau 5 dienų nuo bakterijų augimo aptikimo. Išankstinių augimo rezultatų perdavimas telefonu – tos pačios darbo dienos bėgyje, kai aptinkamas mikroorganizmu augimas ir atliekamas mikroskopinis tyrimas.

6. NUORODOS

- 6.1. LST EN ISO 15189:2007 „Medicinos laboratorijos. Ypatingieji kokybės ir kompetencijos reikalavimai“.

VšĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra PASĖLIS NUO PARUOŠTOS VENOS PUNKCIJAI DONORO RANKOS ODOS	LMC – ML P 03 -2013
		8 lapas
		Leidimas 1

- 6.2. LST EN ISO 9001:2008 „Kokybės vadybos sistemos. Reikalavimai“.
- 6.3. LST EN ISO 9000:2007 „Kokybės vadybos sistemos. Pagrindai ir aiškinamasis žodynas“.
- 6.4. LST EN ISO 9004:2009 „Kokybės vadybos sistemos. Veiklos gerinimas. Rekomendacijos“.
- 6.5. CSN EN 12322 - In vitro diagnostic medical devices - Culture media for microbiology - Performance criteria for culture media.
- 6.6. Sveikatos apsaugos ministro 2007 m. gruodžio 5 d. įsakymas Nr. V-998 „Dėl asmens sveikatos priežiūros įstaigų laboratorijų veiklos vertinimo“ (Žin., 2007, Nr. 131-5311, su pakeitimais).
- 6.7. Sveikatos apsaugos ministro 2001 m. lapkričio 20 d. įsakymas Nr. 605 „Dėl bendrųjų kraujo komponentų gamybos sterilumo kontrolės reikalavimų patvirtinimo“ (Žin., 2001, Nr. 99-3564).
- 6.8. Sveikatos apsaugos ministro 2012 m. lapkričio 22 d. įsakymas Nr. V-1063 „Dėl kraujo donorystės įstaigų ir ligoninių kraujo bankų geros praktikos nuostatų patvirtinimo“ (Žin., 2012, Nr. 139-7132).
- 6.9. Sveikatos apsaugos ministro 1998 m. spalio 22 d. įsakymas Nr. 605 „Dėl kraujo ir kraujo sudėtinių dalių paėmimo iš donorų tvarkos, davimo dozių ir dažnumo patvirtinimo“ (Žin., 1998, Nr. 94-2624).
- 6.10. Sveikatos apsaugos ministro 1999 m. lapkričio 29 d. įsakymas Nr. 515 „Dėl sveikatos priežiūros įstaigų veiklos apskaitos ir atskaitomybės tvarkos“ (Žin., 1999, Nr. 103–2972; Žin., 1999, Nr. 105, su pakeitimais).
- 6.11. Sveikatos apsaugos ministro 2008 m. balandžio 29 d. įsakymas Nr. V-338 „Dėl Minimalių asmens sveikatos priežiūros paslaugų kokybės reikalavimų aprašo tvirtinimo“ (Žin., 2008, Nr. 53-1992, su pakeitimais).
- 6.12. Sveikatos apsaugos ministro 2008 m. kovo 4 d. įsakymas Nr. V-168 „Dėl Lietuvos medicinos normos MN 70:2008 „Laboratorinės medicinos gydytojas. Teisės, pareigos, kompetencija ir atsakomybė“ patvirtinimo“ (Žin., 2008, Nr. 35–1248).
- 6.13. Sveikatos apsaugos ministro 2008 m. kovo 4 d. įsakymas Nr. V-169 „Dėl Lietuvos medicinos normos MN 68:2008 „Medicinos biologas. Teisės, pareigos, kompetencija ir atsakomybė“ patvirtinimo“ (Žin., 2008, Nr. 35–1249).
- 6.14. Sveikatos apsaugos ministro 1999 m. sausio 6 d. įsakymas Nr. 5 „Dėl Lietuvos medicinos normos MN 69:1999 „Klinikos laborantas. Pareigos, teisės ir atsakomybė“ tvirtinimo“ (Žin., 1999, Nr. 5–123).
- 6.15. VULSK Vidaus taisyklės.
- 6.16. VULSK Darbo tvarkos taisyklės.
- 6.17. VULSK generalinio direktoriaus 2008-06-04 įsakymas Nr. V-315 „Dėl nepageidaujamų įvykių privalomo registravimo“.
- 6.18. VULSK generalinio direktoriaus 2009 m. birželio 17 d. įsakymas Nr. V-326 „Dėl Higienos taisyklių tvirtinimo“.
- 6.19. VULSK generalinio direktoriaus 2009 m. liepos 3 d. įsakymas Nr. V-362 „Dėl Pirštinių naudojimo tvarkos tvirtinimo“.
- 6.20. VULSK generalinio direktoriaus 2008 m. kovo 18 d. įsakymas Nr. V-149 „Dėl medicininių atliekų tvarkymo reikalavimų“.

VšĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra PASĖLIS NUO PARUOŠTOS VENOS PUNKCIJAI DONORO RANKOS ODOS	LMC – ML P 03 -2013
		9 lapas
		Leidimas 1

- 6.21. VULSK generalinio direktoriaus 2011 m. birželio 7 d. įsakymas Nr. V-289 „Dėl Laboratorinės diagnostikos centro laboratorinių tyrimų siuntimo formų tvirtinimo“.
- 6.22. VULSK generalinio direktoriaus 2007 m. kovo 2 d. įsakymas Nr. V-133 „Dėl registracijos žurnalų Laboratorinės diagnostikos centre tvirtinimo“.
- 6.23. VULSK Laboratorinės medicinos centro Mikrobiologijos laboratorijos darbuotojų pareigų instrukcijos.
- 6.24. VUL SK Laboratorinės medicinos centro darbuotojų darbų saugos instrukcijos.
- 6.25. P01-2005 „KVS dokumentų parengimas ir valdymas“.
- 6.26. P05-2005 „Kokybės duomenų įrašų valdymas“.
- 6.27. P03-2011 „Neatitikčių valdymas. Korekciniai ir prevenciniai veiksmai“.
- 6.28. Transfusion Microbiology, John A.J. Barbara, Marcela Contreras. Cambridge University Press 2008, psl. 92.
- 6.29. Bacterial persistence on blood donor's arms after phlebotomy site preparation: analysis of risk factors, Journal of hematology, vol 88(07): July 2003.
- 6.30. Skin disinfection methods: prospective evaluation and postimplementation results, Sandra Ramirez-Across, Mindy Goldan. Transfusion 2009.
- 6.31. Evaluation of donor arm disinfection techniques, McDonald CP, Lowe P, Roy A, Robbins S, Hartley S, Harrison JF, Slopecki A, Verlander N, Barbara JA. Vox Sang. 2001 Apr;80(3):135-41.
- 6.32. From the donor's arm to blood product: a study on bacterial contamination of apheresis platelet concentrates; Anna Maria Leo, Maria Monica Salvadego. Blood Transfus. 2007 July; 5(3): 130–133.

7. DOKUMENTACIJA

- 7.1. Sanitarinių tyrimų registracijos žurnalas;
- 7.2. Neatitikčių registravimo žurnalas;
- 7.3. Nepageidaujamų įvykių registravimo žurnalas;
- 7.4. Mikrobiologinis taršos ir sterilumo tyrimas;
- 7.5. Tioglikolinės terpės kokybės kontrolė;
- 7.6. Mitybinės terpės (lėkštelėse) kokybės kontrolė;
- 7.7. Terpės augimo kontrolė;
- 7.8. Terpės sterilumo kontrolė.

8. KEITIMAI

Šios P keitimus atlieka rengėjas pagal P P01-2005 „KVS dokumentų parengimas ir valdymas“, punktą Kokybės vadybos sistemos dokumentų keitimas.

9. PASKIRSTYMAS

Šios procedūros originalas saugomas pas MASV; kopijos po vieną įteikiamos LMC Direktoriui bei LMC M vyr. ordinatoriui. Kiti su procedūra susipažįsta elektroninėje laikmenoje INTRANET SANTA.

VšĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra PASĖLIS NUO PARUOŠTOS VENOS PUNKCIJAI DONORO RANKOS ODOS	LMC – ML P 03 -2013
		10 lapas
		Leidimas 1

10. PRIEDAI

A priedas. Mitybinės terpės (lėkštelėse) kokybės kontrolė.

B priedas. Terpės augimo kontrolė.

C priedas. Terpės sterilumo kontrolė.

D priedas. Mikrobiologinių išorinės kokybės kontrolės tyrimų rezultatų apibendrinimas

VŠĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra PASĖLIS NUO PARUOŠTOS VENOS PUNKCIJAI DONORO RANKOS ODOS	LMC – ML P 03 -2013
		11 lapas
		Leidimas 1

A priedas

PATVIRTINTA
VŠĮ VUL Santariškių klinikų
Generalinio direktoriaus
2013 m. 04 36 d
Įsakymu Nr. 1-227

**Mitybinės terpės (lėkštelėse).....
kokybės kontrolė**

Už terpių gamybą atsakingas asmuo..... Protokolo Nr.....
(v., pavardė, pareigos)
Gamybos data..... Partijos Nr.....

1. Fizinės ir cheminės savybės

Masė, g..... Ph.....
Išvaizda..... Terpės storis lėkštelėse, mm.....

2. Sterilumo kontrolė. Tikrinama 5 % pagamintos terpės. Inkubuojama 2 paras (36±1°C)

Inkubavimo temperatūra, °C	(36±1°C)				
Lėkštelės Nr.	1	2	3	4	5
Kolonijų skaičius					

3. Mikrobiologinė kontrolė.

Kontrolinė bakterijų padermė.....
Santykinis augimo indeksas (SAI):
SAI = · 100 % =

Išvada.....

Kontrolės atlikimo data..... Atsakingas asmuo.....

VšĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra PASĖLIS NUO PARUOŠTOS VENOS PUNKCIJAI DONORO RANKOS ODOS	LMC – ML P 03 -2013
		15 lapas
		Leidimas 1

PASTABOS, PASIŪLYMAI, DERINIMAI

Eil. Nr.	Skyrius	Pastabos ir pasiūlymai (nurodyti punktą, siūlymą arba suderinta be pakeitimų)	Padalinio vadovo parašas
1	2	3	4
1.			
2.			
3.			
4.			
5.			
6.			

VšĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra	LMC – ML
	PASĖLIS NUO PARUOŠTOS VENOS PUNKCIJAI	P 03 -2013
	DONORO RANKOS ODOS	16 lapas
		Leidimas 1

Procedūra

PASĒLIS NUO PARUOŠTOS VENOS PUNKCIJAI DONORO RANKOS ODOŠ

LMC – ML
P 03 -2013
16 | lapas
Leidimas 1

PROCEDŪROS PERŽIŪRŲ REGISTRACIJOS LAPAS

[illegible]

VšĮ VUL Santariškių klinikos	Procedūra PASĖLIS NUO PARUOŠTOS VENOS PUNKCIJAI DONORO RANKOS ODOS	LMC – ML
		P 03 -2013
		17 lapas
		Leidimas 1

PROCEDŪROS KEITIMŲ REGISTRACIJA

[illegible]