Balneoloogilistes protseduurides kasutatavast looduslikust mudast ja turbast või nende valmististest mikrobioloogiliste proovide võtmise juhend

KAVAND

koostaja: Kai Künnis-Beres (TERE KK)

Juhend on kasutatav koos tervise- ja tööministri määrusega „Nõuded balneoloogilistes protseduurides kasutatavale looduslikule mudale ja turbale, nende käitlemisele ja märgistamisele“ (määrus kehtestatakse rahvatervishoiu seaduse § 17 lõike 2 alusel). Määrusega kehtestatakse nõuded terviseohutuse tagamiseks balneoloogilistes protseduurides kasutatavale looduslikule meremudale, järvemudale (edaspidi ravimuda) ja turbale ning nende käitlemisele, kvaliteedikontrollile ja märgistamisele.

1. Juhendi reguleerimisala

Käesoleva juhendiga kehtestatakse balneoloogiliste protseduuride osutamiseks kasutatavast looduslikust mudast (*edaspidi* ravimudast), turbast või nende valmististest mikrobioloogiliste proovide võtmise metoodika (*edaspidi* proovivõtumeetod).

Juhendi koostamisel on tuginetud kehtivatele samalaadsetele regulatsioonidele ja juhendmaterjalidele.[1],[2],[3],[4],[5] Arvestatud on ka praeguste ravimuda kasutajate ja käitlejate senist praktilist kogemust.

2. Mõisted

1) balneoloogiline protseduur - ravimuda, turba või nende valmististe välispidine kasutamine inimese kehapinnal enesetunde parandamise eesmärgil;

2) esindusproov - proov, milles on säilinud selle partii omadused, millest proov on võetud;

---

[1] Proovivõtumeetodid. Keskkonnaministri määrus nr. 49, jõustunud11.10.2019 (kehtiv). RT I, 08.10.2019, 1

[2] EVS-EN ISO 5667-3:2018. Vee kvaliteet. Proovivõtt. Osa 3: Veeproovide konserveerimine ja käitlemine, jõustunud 01.08.2018 (kehtiv)

[3] Terviseameti Nakkushaiguste labor PROOVIVÕTU JUHEND, 2019

[4] Proovide võtmise ja analüüsimise meetodid saasteainete sisalduse määramiseks toidutoormes ja toidus. Vabariigi Valitsuse 20.10.2003. a määrus nr 263; RT I 2006, 29, 227 - jõust. 1.07.2006 (kehtetu)

[5] Songissep, E. ja L. Sadam. TOIDU- JA HÜGIEENIPROOVIDE VÕTMINE mikrobioloogilisteks analüüsideks ning proovide analüüsimine. Bio CC OÜ, Ecoprint, Tartu 2018. ISBN 978-9949-88-641-8 (pdf)

3) keskmistatud ehk koondproov - kõigi partiist või osapartiist võetud punktproovide kogum, millest võetakse peale põhjalikku segamist (homogeniseerimist) esindusproov laboratooriumis analüüsimiseks; kogumi moodustavad punktproovid peavad olema võrdelised;
4) partii - selle juhendi mõistes kindel suurem pakendamata säilitatav ravimuda, turba või nende valmististe toodangu kogus, seeria või kaubasaadetis, mida kasutatakse balneoloogilisteks protseduurideks;
5) proov - selle juhendi tähenduses on kogumist eraldatud materjalikogus. Esinduslik proov peab iseloomustama partiid;
6) proovivõtumeetod - proovi võtmiseks kasutatav protseduur;
7) punktproov - partii ühest kohast võetud materjalikogus;
8) valmistis – vähemalt kahe aine segu.[6]

3. Proovivõtt

3.1 Proovivõtu eesmärk

(1) Enesekontrolli raames proovivõtu teostamine. Proovivõttu teostatakse vastavalt ettevõtte poolt koostatud ja kinnitatud proovivõtukavale. Proovivõtukava koostamisel tuleb arvestada ettevõtte tegevuste/teenuste iseloomu, tegevuste mahtusid ja keskkonda (sh hoidlate/ladude ja mahutite (vt Lisa 2) suurust, temperatuuri, ventileeritavust, välisteguritele eksponeeritust).
(2) Järelevalve raames proovivõtu teostamine. Proov võetakse ettevõtte omaniku või tema esindaja juuresolekul. Järelevalveks võib võtta proove käitlemise kõikidel etappidest arvestades ettevõtte tegevuste mahtusid, ruumide temperatuuri ja üldist puhtust ning muid järelevalve käigus tuvastatud asjaolusid.

3.2 Proovide liigid

Proovi liigi valimisel tuleb lähtuda proovivõtu eesmärgist ning arvestada proovivõtmise võimalike iseärasustega.
(1) Sõltuvalt proovivõtu eesmärgist saab katselaborisse analüüsimiseks saadetavaid mikrobioloogilisi proove liigitada järgmiselt:
1) *punktproovid*;
2) *koond- ehk keskmistatud proovid*;
3) *sariproovid*.

[6] http://termin.eki.ee/

(1) *Punktproov* on pisteliselt võetud proov, mis iseloomustab ladustatud materjali kvaliteeti proovivõtu ajal ja kohas. Punktproov kirjeldab määratava näitaja sisaldust vaid määratava näitaja ühtlase jaotuse korral ladustatud/säilitatavas materjalis.

(2) *Koond- ehk keskmistatud proov* võimaldab laborisse analüüsimiseks saadetavate proovide hulka minimeerida eeldusel, et mikroobide levik säilitatavas materjalis on ühtlane. Keskmistatud proov moodustatakse kindlas proportsioonis kokku segatud kahest või enamast punktproovist. Tulemuseks saadakse analüüsitavate näitajate keskmised väärtused.

(3) *Sariproov* on punktproovide seeria, mis võetakse ühest kindlast kohast või kindlalt sügavuselt teatud ajavahemike järel. Sel juhul on eesmärgiks mikrobioloogiliste näitajate ajas muutumise tuvastamine. Tõenäosus, et bakterite hulk hakkab säilitamise ajal muutuma on suurem juhul kui säilitatavat materjali pidevalt või perioodiliselt ei segata (homogeniseerita).

3.3 Proovide esinduslikkus

Kui proovimaterjal ei ole oma laadist tulenevalt homogeenne, tuleb see võimaluse olemasolul enne proovivõttu segamise teel homogeniseerida. Kui homogeniseerimine kogu säilitise ulatuses pole võimalik, tuleb võtta punktproove erinevatest kohtadest, nii horisontaalselt kui vertikaalselt, ning need proovid seejärel kokku segada. Tulemuseks saadakse koond- ehk keskmistatud proov.

MÄRKUS: Mahutis sisalduva ravimuda homogeensust saab tõendada teatavate füüsikalis-keemiliste parameetrite, näiteks temperatuuri ja/või pH mõõtmisel mahuti erinevates kohtades (horisontaalselt ja vertikaalselt). Ühtluskriteeriumi täitmiseks peab valitud näitaja erinevates kohtades tehtud mõõtmiste maksimaalne lubatud hälve olema väiksem kui 20 %.[7]

3.4 Proovivõtukohtade ja proovide hulga määramine

(1) Proove tuleb võtta nii palju ja sellistest kohtadest, et nende proovide analüüsimise tulemused iseloomustaksid objekti kogu mahus. Kui ravimuda, turvas või nende valmistis on säilitusmahutis kihistunud, võetakse ühesuurused punktproovid eri kihtidest risti kihistumisega ning segatakse need kokku ehk keskmistatakse. Katselaborisse saadetakse seega üks keskmistatud proov ning tulemuseks on analüüsitavate näitajate keskmine väärtus.

Kui proovide analüüsi tulemuste põhjal tahetakse selgitada kihistumise mõju uuritavale parameetrile, siis võetakse ühesuurused punktproovid eri kihtidest risti kihistumisega ning saadetakse üksikproovidena katselaborisse analüüsimiseks.

[7] EVS-EN ISO 5667-10:2021 Vee kvaliteet. Proovivõtt. Osa 10: Juhised reoveest ja heitveest proovide võtmiseks.

(2) Keskmistatud proovide hulk oleneb säilitatava ravimuda, turba või nende valmistise mahust/kogusest ja säilitusmahuti suurusest, kujust ja sügavusest. Keskmistamiseks on vaja vähemalt kaks punktproovi. Kokkusegatavate punktproovide suurim arv on 10.

(3) Olenemata säilitusanuma/mahuti sügavusest tuleb võtta üks punktproov 20-30 cm sügavuselt. Kui säilitatava materjali kihi paksus mahutis on üle 2 m, tuleb võtta teine täiendav proov mahuti põhja lähedalt. Kui ravimuda, turba või nende valmistise kihi paksus mahutis ületab 4 meetrit, on soovitav võtta kolmas punktproov mudakihi keskelt. Proovide võtmist tuleb alustada pinna lähedalt, seejärel keskelt ja viimasena põhja lähedalt.

(4) Kui mahuti on väike (≤ 50 L) või kui suure mahuti puhul on ravimuda, turvas või nende valmistis mahutis läbi segatud, piisab ühest punktproovist mahuti kohta. (Lisad, Tabel 1)

(5) Kui mahuti horisontaalsed mõõtmed on üle 3 m (diameeter, pikkus/laius) tuleks mahutist ühelt ja samalt sügavuselt võtta kaks või rohkem punktproovi ning seejärel need proovid kokku segada. Kui sellise mahuti sügavus on üle 2 m, siis tuleb sama skeemi kohaselt proovid võtta ka põhja lähedalt. Tulemuseks saadakse kaks keskmistatud proovi, üks keskmistatud proov sügavuskihi kohta. Antud näite puhul saadetakse laborisse kaks keskmistatud proovi. Kui keskmistatud proove ühelt sügavuselt on alla viie punktproovi, siis saab kokku segada ka pinna lähedane keskmistatud proov ja põhja lähedane keskmistatud proov üheks keskmistatud prooviks. Katselaborisse saadetakse analüüsimiseks seega ainult üks keskmistatud proov (vt. Lisad, tabel 1).

(6) Erinevatest kohtadest võetud proove ei keskmistata kui on alust kahtlustada lokaalset saastumist või kui säilitustingimused ei ole kogu mahuti ulatuses ühetaolised (näiteks esinevad temperatuuri erinevused) ning tahetakse saada ülevaade mikroobide levikust ja juurdekasvust mahuti erinevates kohtades

(7) Punktproovidest keskmistatud proovi analüüsimisel saadakse tulemuseks analüüsitud bakterite keskmine arvukus.

Punktproovide arv mahuti kohta, punktproovide võtmise kohad, keskmistatud proovide ja katselaborisse analüüsimiseks saadetavate proovide arv mahuti kohta on esitatud tabelina juhendi lisas (Lisa 1, Tabel 1).

3.5 Proovivõtuga samaaegselt mõõdetavad parameetrid

(1) Proovi võtmisega paralleelselt mõõdetakse säilitusanumas oleva ravimuda, turba või nende valmistise:

1) temperatuur;

2) pH.

(2) Kirjeldatakse proovi konsistentsi (tahke, poolvedel, geelilaadne, vedel), värvust, lõhna ja gaasimullide esinemist.

3.6 Proovide pakendamine

(1) Mikrobioloogilised proovid tuleb paigutada inertsest materjalist puhtasse steriilsesse taarasse (klaas, plast), mida on võimalik saada katselaborist, kuhu proov(id) analüüsimiseks viiakse. Katselabori nõusolekul võib kasutada proovide võtmiseks ja pakendamiseks tellija poolseid proovivõtuks ettenähtud tarvikuid. Mikrobioloogilisteks analüüsideks võetud proovid tuleb võtta aseptika nõudeid järgides. Kõige sobilikumad on mikrobioloogilisi ravimuda proove pakendada laia suudmega tihedalt kaanega suletavatesse purkidesse (vt. näidiseid Lisa 4). Pakendamiseks on kasutatavad ka laboritarvikute tootjatelt ostetud spetsiaalselt mikrobioloogiliste proovide pakendamiseks disainitud steriilsed lekkekindlalt suletavad plastkotid. Kohapeal pudelite ja purkide steriliseerimiseks saab kasutada järgmisi meetodeid:

1) keeva veega korduv läbiloksutamine;
2) kuumas õhus kuumutamine (kuumutuskapp, kuivatuskapp, ahi), vajalik temperatuur 160…200 °C ja aeg: 160 °C juures 90 min, 170 °C juures 60 min ja 180°- 200 °C juures 30 min;
3) kuuma auruga töötlemine (autoklaavimine, 20 minutit 120 °C juures).

(2) Eksituste vältimiseks tuleks võetava proovi suurus enne proovi võtmist ja pakendamist proovi analüüsiva katselaboriga kooskõlastada.

(3) Keskmistatud proovi punktproovidest kokkusegamine tuleb läbi viia puhtas steriilses anumas steriliseeritud segamisvahendiga (spaatel, lusikas, pulk).

(4) Kui segatud punktproovidest on vaja saada kaks või enam keskmistatud proovi või lisaproove, segatakse proovimaterjal enne iga keskmistatud proovi saamist uuesti.

(5) Kui katselabor pole ettekirjutanud teisiti, tuleb proovi pakendamisel täita proovivõtuanum ääreni, nii et korgi alla ei jääks õhumulle.

(6) Kontaktsaastuse vältimiseks peab proovivõtja ja proovi pakendaja kandma kummikindaid ja enne tegevuse alustamist kinnastatud käed alkoholi (70% etanool) või mõne muu vahendiga desinfitseerima.

3.7 Proovivõtuprotokolli vormistamine

(1) Proovivõtja koostab kohe pärast proovi võtmist proovivõtuprotokolli kahes eksemplaris, millest üks antakse üle analüüsi teostavale katselaborile ja teine jääb proovivõtjale.
(2) Sariproovi või keskmistatud proovi võtmisel võib vormistada ühine proovivõtuprotokoll, kus kirjeldatakse detailselt proovivõttu ja keskmistamise protseduuri (punktproovide arv, nende võtmiskohad, suurus jmt).
(3) Proovivõtuprotokoll peab sisaldama vähemalt järgmist informatsiooni:
1) proovivõtu eesmärk (reostuse uuring, seire vms);
2) proovivõtukoht;
3) proovi liik;
4) proovivõtu kuupäev ja kellaaeg;
5) proovi või proovipudeli number;
6) proovivõtu kirjeldus (meetod ja -vahendid, kuidas proov võeti, keskmistamine jne);
7) proovivõtu sügavus;
8) kohapeal mõõdetud füüsikalis-keemiliste näitajate mõõtmistulemused;
9) proovivõtja ees- ja perekonnanimi, (olemasolul atesteerimistunnistuse number) ja allkiri;
10) proovi katselaborisse andmise kuupäev ja kellaaeg;

3.8 Proovi säilitamine ja katselaborisse toimetamine

(1) Proovi toimetamisel katselaborisse tuleb vastavat katselaborit eelnevalt sellest teavitada.
(2) Proov tuleb katselaborisse toimetada võimalikult kiiresti. Mikrobioloogilised proovid tuleb katselaborisse toimetada üldjuhul hommikupoole, sest akrediteeritud mikrobioloogia labor peab analüüse alustama 6-12 tundi peale proovide võtmist.
(3) Kui proovi kiireks katselaborisse toimetamiseks puudub võimalus, tuleb proov/id säilitada kuni katselaborile üleandmiseni pimedas temperatuuril +2 kuni +8 °C ja mitte rohkem kui 24 tundi. Sellised säilitustingimused on vajalikud olenemata sellest, milline oli proovi temperatuur proovivõtmise ajal. Nõutavad säilitamistingimused on saavutatavad kui asetada proovid katselaborisse transportimise ajaks külmkehadega termokasti või autokülmikusse.
(4) Transportimisel tuleb vältida proovide lekkimist ja proovitaara kahjustumist.

3.9 Proovivõtja vastutus

Proovide võtja on kohustatud:
1) tagama võetava proovi esinduslikkus;
2) vältima kõrvaliste ainete sattumist proovi;

3) vältima proovide mikrobioloogilist saastumist;

4) tagama proovi muutumatuna säilimise katselaborisse üleandmiseni;

5) vältima proovi ümbervalamist ühest proovianumast teise.

Kui vaja on proove analüüsida ka keemiliselt, siis tuleb selleks võtta eraldi proovid. Keemilise analüüsi puhul sõltub pakendamiseks kasutatava taara valik analüüsitavast keemilisest ühendist/ainest, mõnel juhul tuleb kasutada klaasist, teisel juhul plastist taarat, steriilsus pole oluline. Kui lisaks on vajadus võtta proovid kuivaine/niiskusesisalduse määramiseks, tuleb need võtta mikrobioloogilistest ja keemilistest proovidest eraldi ja säilitada kuni analüüsimiseni õhukindlates anumates (vältida aurumist).

Versioon	Kuupäev	Muudatus
1.0	05.11.2021	Esimene versioon
2.0	04.01.2022	Sisse viidud kõik Gerlin Kallase ja Terviseameti (Olga Gurjanova ja Marliin koolmeister) ettepanekud ja märkused.
3.0	14.01.2022	Arvestatud Eva soovitustega. Kuna juhend muutus mikrobioloogia keskseks on osaliselt muudetud ka teksti.
4.0	06.02.2022	28.01. koos ettevõtjatega toimunud koosolekul vastuvõetud parandustega versioon - osaliselt muudetud tabelit ja ka teksti.

Lisa 1. Soovitatav proovide arv ja proovivõtmise kohad

Mahuti maht	**Ravimuda kihi paksus mahutis**	**Punkt-proovide arv**	**Proovivõtu koht mitteläbisegatavast mahutist** (sügavus, horisontaalne asukoht)	Keskmistatud proovide arv mahuti kohta	Analüüsitavate proovide arv mahuti kohta
kuni 0,2 m³	< 2 m	**1**	*Üks proov 20-30 cm sügavuselt*	**0**	**1**
0,21-2 m³	≤ 2 m	**1**	*Üks proov 20-30 cm sügavuselt*	**0**	**1**
	> 2 m	**2**	*a) Üks proov 20-30 cm sügavuselt, teine proov mahuti põhja lähedalt – **kokku segada**.* *b) Üks proov 20-30 cm sügavuselt, teine proov mahuti põhja lähedalt.*	**1** **0**	**1** **2**
2,1-20 m³	≤ 2 m	**2**	*Kaks proovi erinevatest kohtadest 20-30 cm sügavuselt – **kokku segada**.*	**1**	**1**
	> 2 m	**4**	*a) Kaks proovi erinevatest kohtadest 20-30 cm sügavuselt – kokku segada + kaks proovi erinevatest kohtadest põhja lähedalt – **kokku segada**.* *b) Kaks proovi erinevatest kohtadest 20-30 cm sügavuselt + kaks proovi erinevatest kohtadest põhja lähedalt.*	**1** **0**	**1** **4**
üle 20 m³	≤ 2 m	**4**	*a) Neli proovi erinevatest kohtadest 20-30 cm sügavuselt – **kokku segada**.* *b) Neli proovi erinevatest kohtadest 20-30 cm sügavuselt.*	**1** **0**	**1** **4**
	> 2 m	**5**	*a) Kolm proovi erinevatest kohtadest 20-30 cm sügavuselt – kokku segada + kaks proovi erinevatest kohtadest põhja lähedalt – kokku segada.* *b) Kolm proovi erinevatest kohtadest 20-30 cm sügavuselt + kaks proovi erinevatest kohtadest põhja lähedalt.*	**1** **0**	**1** **5**

Mahuti maht	**Ravimuda kihi paksus mahutis**	**Punkt-proovide arv**	**Proovivõtt läbisegatavast mahutist või peale mahuti sisu täielikku läbisegamist (homogeniseerimist)**	Keskmistatud proovide arv mahuti kohta	Analüüsitavate proovide arv mahuti kohta
0,2-20 m³	pole oluline	**1**	*Üks proov mahuti kohta, võetuna kas 20-30 cm sügavuselt või väljavoolust.*	**0**	**1**
üle 20 m³	pole oluline	**2**	*a) Kaks proovi mahuti kohta, võetuna kas 20-30 cm sügavuselt või väljavoolust – kokku segada.* *b) Kaks proovi mahuti kohta, võetuna kas 20-30 cm sügavuselt või väljavoolust – kokku segada.*	**1** **0**	**1** **2**

a) rutiinne proovivõtt enesekontrolli raames.

b) mikrobioloogiliste näitajate ruumilise jaotuse ebaühtluse ravimuda, turba või nende valmististe kvaliteedi languse põhjuste tuvastamine.

Lisa 2. Mahutid

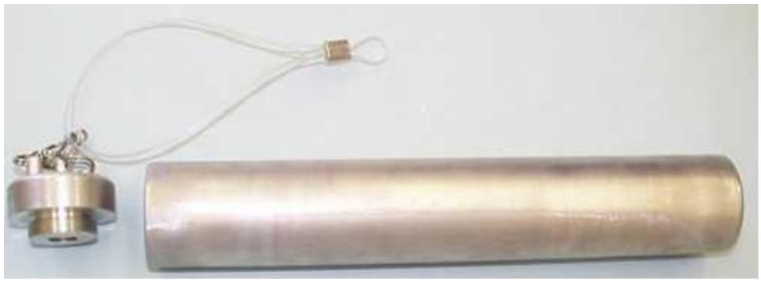
Proovivõtu planeerimise kergendamiseks on otstarbekas lähtuda kohapeal säilitatava ravimuda mahust, mida illustreerib järgnev joonis.

Plastvaat, kuni 0,05 m^3	Plastvaat, 0,05-0,5 m^3	Metallvaat, 0,2-0,5 m^3
Plast- või metallmahuti, 0,2-1,5 m^3 (näidis 0,6 m^3)	Plast- või metallmahuti, 1-5 m^3	Betoonist valatud bassein, 5-20 m^3 Betoonist valatud bassein, >20 m^3

Lisa 3. Proovi võtmise sobilikud vahendid

Sukeldatav proovivõtupudel. Lahtivõetav proovivõtuvahend, mis koosneb raske põhjaga metallraamist ja punnkorgiga suletud plast- või klaaspudelist. Pudel ja punnkork on kinnitatud sobival viisil nööri või keti külge. Kui pudel on sukeldatud vajalikule sügavusele, siis tõmmatakse nööri abil pudelilt punnkork (fotol musta värvi kummikork) ja pudel täitub prooviga. Peale pudeli väljatõmbamist suletakse pudel steriilse pudelikorgiga (fotol sinine keermega kork). Mahutavus: 500–1000 ml.

Sukelsilinder. Lahtivõetav proovivõtuvahend, mis koosneb metall- või plastsilindrist, raskusest põhjas (plastsilindri puhul kiiremaks langetamiseks) ja silindri klappide sulgurist. Sulguriks on üldjuhul silindri uputamiseks kasutatava trossi külge kinnitatav metallist viht, mis alla kukkumisel proovivõtjaga põrkudes vabastab klappe lahti hoidvad vimmastatud paelad/kummid. Sukelsilindriga on võimalik võtta proove eri sügavustelt ja mahus 1000 - 2500 ml.



Nimi:	***Pika ridva külge kinnitatud anum***
Kirjeldus:	Plastist või metallist (roostevaba teras) valmistatud silindrikujuline anum, mille tavapärane maht on 500- 1000 ml;käepidemeid on eri pikkusega.
Foto:	
Kasutusvald-konnad:	Proovivõtt vedelatest ja poolvedelatest ainetest.
Puhastamine ja hooldamine:	Peske pika ridva külge kinnitatud anum ja selle vars voolava veega ja harjaga hoolikalt puhtaks, võimaluse olemasolul loputada destilleeritud või steriilse veega ning laske kuivada toatemperatuuril. Steriliseerige enne järjekordset kasutamist.
Nimi:	***Proovivõtukulbid***
Kirjeldus:	Plastist (PP) või metallist (roostevaba tehas) valmistatud kulp, tavapärane maht on 100–500 ml ja käepidemeid on eri pikkusega.
Foto:	
Puhastamine ja hooldamine:	Pühkige kulp puhtaks, peske seda vee ja harjaga ning laske kuivada toatemperatuuril. Steriliseerige enne järjekordset kasutamist.

Lisa 4. Mikrobioloogiliste proovide pakendid

Materjali valikul on oluline inertsus, hästi puhastatavus ja steriliseeritavus. Klaasist ja temperatuurikindlast inertsest plastist anumaid saab striliseerida kuivatus-, kuumutuskapis või ahjus kuumas õhus (160-200 °C) või autoklaavides (120 °C; klaas või kuumakindel plast).

Mikrobioloogiliste proovide pakendamiseks, säilitamiseks ja transportimiseks sobilikud anumad