

GENERELL BRUKSANVISNING

Ferdiglagde og delvis ferdiglagde medier

Dette dokumentet inneholder informasjon om strukturen av **Bruksanvisning**-dokumentene samt tilleggsinformasjon om bruken av BDs ferdiglagde og delvis ferdiglagde medier.

Tilleggsinformasjon som ikke gis i de enkelte bruksanvisningene, gis her i tekstboksene.

Toppteksten på side 1 i alle dokumentene inneholder **CE-merket**, så sant produktet er et **IVD**-produkt i henhold til det europeiske IVD-direktivet.¹ I tillegg vises **dokumentnummeret og -versjonen** (f.eks. PA-**123456.01** for skålmedier, og BA-**123456.01** for flaskemedier) samt **revisjonsdatoen** (måned og år). Dokumentnummeret og -versjonen gjentas i **bunnteksten** på hver side.

Deretter vises **produktnavnet**. Enkelte **bruksanvisninger** inneholder beskrivelser av flere medier med lignende formel og bruksområde.

BRUKSOMRÅDE

Tiltenkt bruksområde angis. Hvis det brukes til andre bruksområder, må mediet eller prosedyren godkjennes av brukeren.

BD Diagnostic Systems påtar seg ikke noe ansvar hvis produktet brukes i prosedyrer, bruksområder eller med mikroorganismer som ikke er anbefalt i **bruksanvisningen**.

PRINSIPPER FOR OG FORKLARING AV PROSEDYREN

I dette avsnittet angis metodeprinsippet ("mikrobiologisk metode"). I tillegg forklares historien til og utviklingen av mediet, prinsippene for prosedyren og funksjonen til ingrediensene oppført under **REAGENSER**.

REAGENSER

Dette avsnittet inneholder formelen og pH-en til produktet.

In the formula Table, the amounts of the ingredients [g, mg, µg, ml, IU, U, etc] are mentioned only once and further on only if they are changed. An **example is given below:**

BD CHROMagar O157

Formula* Per Liter Purified Water

Chromopeptone	22.0 g	← amount in [g]
Sodium Chloride	5.0	
Potassium Tellurite	2.5 mg	
Cefixime	0.05	← amount in [mg]
Cefsulodin	4.0	← amount in [mg]
Special Chromogenic and Selective Mix	1.0 g	← amount in [g]
Agar	12.0	

pH: 7,1 +/- 0,2

FORHOLDSREGLER

Hvis de har **IVD**-merket, er de ferdiglagde eller delvis ferdiglagde **BD**-mediene indisert for in vitro-diagnostisk bruk, som definert i det europeiske direktivet for produkter til in vitro-diagnostikk.¹ De kan også brukes på andre områder innen mikrobiologi, som angitt for det aktuelle produktet. Disse produktene er kun til profesjonelt bruk og skal bare brukes av personale med hensiktsmessig utdanning eller opplæring. De skal ikke brukes av pasienter til selvtesting.

Hvis de er merket med "For Laboratory Use" (Til laboratoriebruk), skal produktene kun brukes innen industriell eller generell mikrobiologi, bioteknologi eller generell hygiene og må ikke brukes til behandling av kliniske prøver fra mennesker.

Produktet må ikke anvendes dersom det viser tegn på mikrobiell kontaminering, misfarging, uttørking, sprekkdannelse eller har andre tegn til forringelse.

Bruk aseptisk teknikk ved håndtering av prøver og produkt før, under og etter bruk.

Biologisk og kjemisk sikkerhet for produktet

Dette avsnittet kan også inneholde informasjon om bestemte biologiske og/eller kjemiske farer. Dette angis med formålstjenlige symboler sammen med de aktuelle R- og S-frasene for risiko og sikkerhet.

Når det gjelder farer med opphav i dyremateriale som er brukt, forplikter **BD** seg til å anskaffe slikt materiale hovedsakelig fra Australia, New Zealand og USA. Ingen av disse landene har rapportert tilfeller av BSE (bovin spongiform encefalopati) i lokalt storfe. **BD** anskaffer dyremateriale også fra andre land (f.eks. Argentina, Brasil, Colombia, Mexico, Sør-Afrika og Uruguay). Ingen av disse andre landene har rapportert tilfeller av BSE i lokalt storfe.

Biologiske farer fra prøver og mikroorganismer kultivert på mikrobiologiske medier

Følg etablerte forholdsregler mot mikrobiologiske farer. Prøver og kulturer med mikroorganismer må håndteres i henhold til lokale retningslinjer og lover for biologiske farer. I henhold til EU-direktiv 2000/54/EF er de fleste bakterie- og soppatogener inkludert i risikogruppe 2. Risikogruppe 3** er opprettet for å omfatte *Salmonella typhi*, enterohemoragisk *Escherichia coli* (EHEC, også kalt STEC = Shigatoksin-produserende *E. coli*), *Shigella dysenteriae* (type 1) og flere andre bakterier og sopper. Blant flere andre bakterie- og soppatogener er alle *Brucella* spp., *Mycobacterium tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. ulcerans* og *Histoplasma capsulatum* inkludert i risikogruppe 3. For detaljer se vedlegg III i direktiv 2000/54/EF.³ Dette og andre EU-direktiver er tilgjengelige på <http://europa.eu.int/eur-lex>

Produktkassering

Etter bruk og før kassering må prøvebeholdere og alt kontaminert materiale, inkludert brukte vekstmedier og kontaminerte kulturbeholdere, autoklaveres i 20 til 30 minutter ved 121 °C eller høyere (hvis store mengder kassert materiale må steriliseres) eller brennes i henhold til godkjente prosedyrer.

OPPBEVARING OG HOLDBARHET

Ferdiglagde skålmedier fra **BD** må oppbevares ved +2 til +8 °C. Medier i flasker og dyppobjektglass må oppbevares ved samme temperatur eller ved andre oppbevaringstemperaturer.

I tillegg til i den bestemte **Bruksanvisningen** er oppbevaringstemperaturen trykt på pakningsetiketten eller produktesken.

Unngå frost og overoppheting.

Frost kan føre til fullstendig forringelse av agargeler eller til presipitasjon i væskemedier. Lengre oppbevaring i høyere temperatur enn angitt oppbevaringstemperatur kan føre til forringelse av medieingredienser. Dette gjelder spesielt selektive agenser som antimikrobielle midler. For mye fuktighet som følge av kondensvann kan oppstå etter store etterfølgende temperaturendringer (f.eks. fra 2 °C til 25 °C og tilbake til 2 °C) på alle faste medier. Skålmedier med for mye fuktighet må tørkes før inokulering, f.eks. ved å plassere dem med åpent lokk i en ren inkubator ved 30–37 °C i opptil én time maksimalt. Ikke la mediene tørke ut! Den nøyaktige eksponeringstiden er avhengig av luftfuktigheten i inkubatoren.

Oppbevaring av åpnede pakning er også angitt. Angitt oppbevaring av åpnede stabler med skålmedier henviser til nedkjølt oppbevaring på et rent sted.

Kontaminering under oppbevaring på unngås av brukeren, f.eks. ved å pakke skålene i rene plastposer.

For oppbevaring av flaskemedier fra åpnede pakninger gjelder holdbarhetstiden på pakningsetiketten på flaskene eller ampullene så lenge de ikke er åpnet.

Alle ferdiglagde eller delvis ferdiglagde medier må oppbevares på et mørkt sted.

Hvis de utsettes for kunstig lys, sollys eller UV-lys i lengre tid, kan funksjonen til alle medier bli redusert. Flere medier, slik som kromogene medier, Endo-agar og andre, er spesielt sensitive overfor sterk belysning før og under inkubering.

Alle ferdiglagde eller delvis ferdiglagde medier fra **BD** kan brukes frem til **utløpsdatoen** og inkuberes i de anbefalte inkuberingstidene.

Som et eksempel omfatter dette inokulering av et mykobakteriemedium på utløpsdagen etterfulgt av fire til seks ukers inkubering. Unngå uttørking av mediet under inkubering. Utløpsdatoen (timeglasssymbolet) står på de enkelte beholderne og på pakningsetiketten. Tidsformatet år-måned-dag brukes på alle produkter, f.eks. 2004-06-09 for 9. juni 2004.

KVALITETSKONTROLL FOR BRUKERE

Prosedyrene for kvalitetskontroll i **bruksanvisningen** skal utføres av brukeren. Teststammene som nevnes der, tilsvarer vanligvis (men ikke alltid) stammene som brukes i produsentens kvalitetskontrollprosedyrer før produktutgivelse, og disse kan omfatte ytterligere teststammer. Som oftest brukes stammer fra American Type Culture Collection (ATCC, www.atcc.org), men det brukes også stammer fra europeiske samlinger, f.eks. Deutsche Sammlung von

Analysesertifikatet for det aktuelle produktpartiet (lotnummeret) angir den faktiske teststammegruppen og resultatene for lotutgivelsen.

Prosedyrerne for å utføre en mikrobiologisk funksjonstest kan være avhengig av typen medium og metoden som følges.

Bruk alltid ferske teststammesuspensjoner laget av kulturer som har ligget over natten i egnede væskemedier (f.eks. Tryptic eller **Trypticase** Soy Broth for aerobere og Schaedler Broth med hemin og vitamin K for anaerobere). Alternativt kan det brukes ferske suspensjoner laget av kulturer som har ligget over natten på skålemedier. Inkuberingstider for forkulturer må forlenges hvis teststammen vokser tregt.

For **testing av den næringsmessige kapasiteten på et skålmedium** i henhold til CLSI-standard M22, skal inokulatet fortynnes slik at det gir 1 til 2×10^4 CFU per skål.⁴ Hvis dette ikke gir isolerte kolonier, skal du bruke et inokulat som er ti ganger lettere. I henhold til DIN EN 12322 testes de vekstfremmede egenskapene med 100 til 1000 CFU eller en tilstrekkelig mengde CFU for å gi isolerte kolonier ved hjelp av en formålstjenlig strykeskålteknikk.⁵ Hvis stammene inokuleres med en kvantitativ skålteknikk, er 50 til 500 CFU per plate vanligvis nok til å oppnå et tellbart antall kolonier. Ifølge retningslinjene til USP og EP må det brukes 10 til 100 CFU per skål (eller beholder).^{6,7}

For **testing av hemmingskapasiteten til et bestemt skålmedium** må det i henhold til CLSI M22 brukes 1 til 2×10^5 CFU per skål for inokulering og omtrent 10^4 CFU eller mer i henhold til DIN EN 12322.^{4,5} Svært høye inokulater av uønskede stammer kan "overlaste" mediet og føre til "gjennombruddsvekst".

Til sammenligning skal det alltid tas med et vekstreferansemedium. Dette skal være et ikke-selektivt medium som gir optimal vekst for alle teststammer. For aerobe stammer passer Columbia-agar med 5 % saueblod til dette formålet, for næringskrevende stammer (som *Neisseria gonorrhoeae*) passer Chocolate-agar, for anaerobere passer Schaedler-agar med vitamin K og 5 % saueblod, og for sopper passer Sabouraud Glucose Agar. Ved kvantitativ testing skal veksten av "ønskede" stammer på testmediet være minst 70 % av vekten på referansemediet. På selektive medier må veksten av "uønskede" stammer være delvis eller fullstendig hemmet. Hemmingsgraden avhenger av mediet og stammene, men veksten reduseres vanligvis med en faktor på 10^3 til 10^4 (eller mer) sammenlignet med veksten på ikke-selektivt referansemedium.

For testing av **vekstytelsen av medier i ampuller eller flasker** brukes sammenlignbare metoder. Mindre rør og ampuller skal inokuleres med 10^5 CFU ifølge standarden CLSI M22-A2.⁴ Prosedyrer fra EP, USP og DIN EN 12322 krever samme inokulater som angitt ovenfor for skålmediene.⁵⁻⁷ Ampuller eller flasker med fyllevolum over 10 mL skal først fordeles i mengder på 5 eller 10 mL i sterile rør og testes på samme vis.

Inkuber og inspiser det inokulerte mediet som beskrevet for det aktuelle produktet.

Fastslå **pH** potensiometrisk ved romtemperatur (25 °C) for å imøtekomme verdiene angitt for produktet. pH-verdien som er gitt i **bruksanvisningen**, er den som er fastslått etter produksjon av mediet. Den kan variere litt i løpet av

holdbarhetstiden og kan være avhengig av elektrodesystemet som brukes.

Produktets sterilitet kan testes av brukeren ved å inkubere flere skåler (eller beholdere, f.eks. flasker) ved en passende inkuberingstemperatur (f.eks. 28–35 °C) i 5 til 7 dager eller som egnet for prosedyrene som følger.^{6,7}

Væskemedier med naturlig turbiditet skal subkultiveres på et egnet fast medium (f.eks. skåler med **Trypticase**-soyaagar) etter inkubering for å fastslå steriliteten. I tillegg kan Gram-farger og mikroskopi fra mediet være nyttig ved tvilstilfeller.

PROSEDYRE

Under **Materialer som følger med** er mediet og typen beholder angitt. De fleste ferdiglagde skålmedier fra **BD** leveres i **BD Stacker** 90 mm skåler som kan låses sammen for å minimere faren for at skålstablene sklir fra hverandre. Visse ferdiglagde skålmedier fra **BD** leveres i forskjellige typer skåler, som inndelte skåler (biskåler), kontaktskåler, 150 mm skåler eller firkantede skåler, avhengig av bruksområdet.

Ferdiglagde eller delvis ferdiglagde medier i flasker eller ampuller fra **BD** er tilgjengelige i mange forskjellige størrelser og fyllevolumer og med ulike lukninger avhengig av bruk og bruksområde. Her gis det informasjon om produktets mikrobiologiske tilstand:

Skålmedier, dyppeobjektglass og visse medier i ampuller eller flasker er aseptisk fylt og således "mikrobiologisk kontrollert". For disse mediene tillater DIN EN 12322-standarden en kontamineringsrate på $\leq 5\%$.⁵ De interne utgivelseskriteriene er imidlertid strengere.

Flaskemedier som er sterilisert i sluttbeholderen er merket med sterilitetssymbolet sammen med termometersymbolet (for sterilisering ved autoklaving). For disse mediene gjelder EP-kriteriene for sterile produkter.⁶

Under **Materialer som ikke følger med** finner du spesialutstyr som trengs til å utføre testen. Vanlige materialer som pøseøser, spredere, pipetter, inkubatorer osv. er ikke angitt her siden de regnes for å være standardutstyr i et mikrobiologisk laboratorium.

Under **Prøvetyper** angis prøvematerialet/-materialene som skal brukes med det aktuelle mediet. Hvis det er nødvendig, angis spesielle krav til innsamling og transport av prøven under **Innsamling og transport**.

Prøver må samles inn og transporteres på riktig vis ved hjelp av egnede transportmedier for å unngå uttørking, unødig eksponering for oksygen eller overvekst av kommensale organismer. I tillegg må tiden det tar fra innsamling til behandling av prøvene i laboratoriet være kortest mulig. Les formålstjenlig referansemateriale for nærmere informasjon om innsamlings- og transportmetoder for bestemte patogener.⁸

Under **Test Procedure** gis det generell og spesifikk informasjon om inokulering av det bestemte mediet, og bruk av eventuelle tilleggsmedier beskrives også.

Medieinokulering

Det er god laboratorieskikk innen mikrobiologi å inokulere medier med en prøve ved å stryke ut for isolering med tre utstrykninger på hver plate ved hjelp av en resterilisert øse før hver utstrykning. Hvis det brukes forhåndssteriliserte øser, må det brukes en separat øse for hver utstrykning. Hvis materialet kultiveres direkte fra en bomullspinne, skal pinnen rulles over et lite område ved kanten av overflaten. Stryk så ut for isolering fra dette inokulerte området ved hjelp av øser. Bruk to utstrykninger. Med denne teknikken kan du isolere enkeltkolonier fra blandede kulturer. Rene kulturer tatt fra enkeltkolonier er obligatorisk for identifisering og resistenstesting av isolatene.

Inkuberingstemperaturen og -tiden nevnes også her.

Det er god laboratorieskikk å sjekke den faktiske **temperaturen i inkubatorene** regelmessig. Temperaturer under og over det gitte verdiorrådet kan føre til tap av levedyktighet hos organismene i kulturene, til redusert vekst eller til resultater som ikke kan reproduseres.

Under inkubering av ferdiglagde skållmedier må du sørge for tilstrekkelig **luftfuktighet**, spesielt hvis de inkuberes i en lengre periode. I så fall skal det ikke brukes inkubatorer med lufteanlegg siden mediene kan tørke ut, spesielt når luftfuktigheten i laboratoriet er lav. Skållkulturer med mikroorganismer som er tilpasset fuktighet forhold, f.eks. *Legionella*, må inkuberes i fuktete kamre eller glass. Skåller kan også forsegles med teip for å redusere fordampning. Det må imidlertid kunne forekomme en minimal gassutveksling. Dette gjelder også for rørmedier: skrulokk skal alltid sitte litt løst under inkubering.

I avsnittet **Resultater** finner du informasjon om utseendet av organismene på det aktuelle mediet. Denne spesifikke informasjonen kan ikke gis for alle organismer som kan dyrkes på universelle isolerings- og vekstmedier. Les egnet referansemateriale.⁹

Spesifikk informasjon gis til slutt under **Beregning og tolkning av resultater**. Dette avsnittet finnes hvis en diagnose er avhengig av mengden patogener i en prøve. Dette gjelder for medier som for eksempel CLED-agar, som brukes til å telle bakterier i urin.

FUNKSJONSDATA OG PROSEDYREBEGRENSNINGER

Funksjonen til mediet diskuteres og eventuelle organismetyper som kan isoleres med mediet, angis sammen med beviskilder. For nye eller nylig utgitte medier kan resultater fra funksjonsevalueringer være inkludert her.

Det må understrekes at et enkeltmedium kun i sjeldne tilfeller er tilstrekkelig for å påvise alle organismer med potensiell signifikans i en prøve eller et prøvemateriale. Det kan også finnes enkeltstammer innenfor en mikrobiell populasjon som ikke vokser riktig på et visst medium selv om mediet er egnet til påvisning av de fleste andre stammer av denne arten. Derfor inokuleres to eller tre forskjellige medier samtidig for de fleste prøver og prøvematerialer, eller et ikke-selektivt medium kombineres med ett eller to selektive medier, eller det brukes to selektive medier med forskjellig grad av selektivitet.

Spesifikke kjente **begrensninger i bruken** av mediet nevnes også her.

For de fleste medier må det utføres flere tester for å identifisere de isolerte organismene fullstendig.

REFERANSER

Her finner du litteraturen som er sitert i dokumentet.

FORPAKNING/TILGJENGELIGHET

Her nevnes de tilgjengelige **katalognumrene**, **pakningsstørrelsene** og eventuelt de ulike formatene.

FLERE OPPLYSNINGER

Her finner du videre informasjon, inkludert produsentens adresse (fabrikksymbol). Til slutt angis varemerkene som er nevnt i de aktuelle dokumentene.

REFERANSER SITERT I DENNE GENERELLE BRUKSANVISNINGEN

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