

GENEREL BRUGSANVISNING

Medier klar til brug og delvist færdiggjorte

Dette dokument giver oplysninger om strukturen i **Brugsanvisningerne** og indeholder yderligere oplysninger om brugen af **BD** medier klar til brug og delvist færdiggjorte.

Yderligere oplysninger, der ikke gives i de enkelte Brugsanvisninger, findes her i tekstboksene.

Overskriften på side 1 i alle dokumenter indeholder **CE mærket**, hvis produktet er et **IVD** i overensstemmelse med det europæiske IVD direktiv¹. Ligeledes opgives **dokumentnummer og version** (fx **PA-123456.01** for medier på plade og **BA-123456.01** for medier på flaske) og **revisionsdato** (måned og år). Dokumentnummeret og versionen gentages i **sidefoden** på hver side.

Dernæst opgives **produktnavnet**. Nogle **Brugsanvisninger** indeholder beskrivelser af flere medier med lignende formuleringer og anvendelser.

TILSIGTET BRUG

Anvendelsesområdet angives. Hvis det bruges til andre anvendelsesområder, skal mediet eller proceduren valideres af brugeren.

BD Diagnostic Systems påtager sig intet ansvar, hvis produktet bruges til anvendelser, mikroorganismer eller procedurer, der ikke anbefales i **Brugsanvisningen**.

PROCEDURENS PRINCIPPER OG FORKLARING

I dette afsnit angives princippet i metoden ("Mikrobiologisk metode"). Desuden forklares oplysninger om mediets historie og udvikling, procedurens principper og ingrediensernes funktion, som angivet under **REAGENSER**.

REAGENSER

Dette afsnit beskriver produktets formel og pH.

I formeltabellen nævnes mængderne af ingredienserne [g, mg, µg, mL, IU, U osv.] kun en gang og senere hen kun, hvis de ændres. Der gives et **eksempel** herunder:

BD CHROMagar O157

Formula* Per Liter Purified Water

Chromopeptone	22,0 g	
Natriumchlorid	5,0	← <i>mængde i [g]</i>
Kaliumtellurit	2,5 mg	
Cefixim	0,05	← <i>mængde i [g]</i>
Cefsulodin	4,0	← <i>mængde i [g]</i>
Speciel chromogen og selectiv blanding	1,0 g	
Agar	12,0	← <i>mængde i [g]</i>

pH: 7,1 ± 0,2

FORHOLDSREGLER

Hvis produkterne er mærket **IVD**, er **BD** klar til brug og delvist færdiggjorte medier beregnet til in vitro diagnostik, som defineret i det europæiske direktiv om anordninger til in vitro diagnostik.¹ De kan også bruges i andre områder af mikrobiologi, som angivet for det respektive produkt.

Disse produkter er kun til professional brug og må kun bruges af uddannet eller erfarent personale. De må ikke bruges af patienter til selvtestning.

Hvis produkterne er mærket "Til laboratoriebrug", er de kun beregnet til brug i industriel eller generel mikrobiologi, bioteknologi eller generel hygiejne og må ikke bruges til behandling af kliniske præparater fra mennesker.

Et produkt må ikke bruges, hvis det viser tegn på mikrobiel kontaminering, misfarvning, udtørring, brud eller andre tegn på forringelse.

Overhold aseptisk håndtering af præparater og produktet før, under og efter brug.

Produktets biologiske og kemiske sikkerhed

Dette afsnit kan også indeholde oplysninger om specifikke biologiske og/eller kemiske farer, angivet af de relevante symboler, sammen med de relevante R- (risiko)- og S- (sikkerheds) sætninger.²

Vedrørende risici, der oprinder fra anvendt dyremateriale, er **BD** forpligtet til at skaffe sådanne materialer primært fra Australien, New Zealand og USA. Ingen af disse lande har rapporteret tilfælde af BSE (bovin spongiform encefalopati) i nativt kvæg. **BD** skaffer ligeledes materialer af dyreoprindelse i andre lande [fx Argentina, Brasilien, Columbia, Mexico, Sydafrika og Uruguay]. Ingen af disse lande har rapporteret tilfælde af BSE i nativt kvæg.

Biofarer, der oprinder fra præparater og mikroorganismer dyrket på mikrobiologiske medier

Overhold godkendte forholdsregler mod mikrobiologiske farer. Præparater og kulturer af mikroorganismer skal håndteres i overensstemmelse med lokale retningslinier om biofarer og lovgivning. I overensstemmelse med det europæiske direktiv 2000/54/EF er de fleste bakterie- og svampepatogener omfattet af risikogruppe 2. Risikogruppe 3** er blevet oprettet til at omfatte *Salmonella* Typhi, enterohæmoragisk *Escherichia coli* (EHEC; også benævnt STEC = Shiga toksin-producerende *E. coli*), *Shigella dysenteriae* (type 1) og mange andre bakterier og svampe. Blandt mange andre bakterie- og svampepatogener er alle *Brucella* arter, *Mycobacterium tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. ulcerans* og *Histoplasma capsulatum* omfattet af risikogruppe 3. For detaljer bedes De læse Tilføjelse til bestemmelse III af direktiv 2000/54/EF.³ Dette og andre europæiske direktiver kan ses direkte via www.europa.eu/index.htm

Bortskaffelse af produkt

Efter brug og inden bortskaffelse skal præparatbeholdere og alt kontamineret materiale, herunder de brugte dyrkningsmedier og kontaminede dyrkningsbeholdere, autoklaveres i 20 til 30 min ved 121 °C eller derover (hvis store mængder bortskaffede materialer skal steriliseres) eller brændes med validerede procedurer.

OPBEVARING OG HOLDBARHED

BD plademedier klar til brug skal opbevares ved 2 til 8 °C. Medier i flasker og dyppeobjektglas skal opbevares ved samme eller ved forskellige opbevaringstemperaturer.

Ud over den specifikke **Brugsanvisning** er opbevaringstemperaturen angivet på produktets pakningsmærkat eller æske.

Undgå frysning og overophedning.

Frysning kan resultere i fuldstændig nedbrydning af agar geler eller i bundfældninger i flydende medier. Temperaturer, der overstiger den angivne opbevaringstemperatur i længere tid, kan føre til nedbrydning af mediets ingredienser. Dette gælder især for selektive stoffer, som fx antimikrobielle stoffer.

Der kan udvikles overskudsfugt på grund af kondensvand efter ekstreme efterfølgende temperaturændringer (fx fra 2 °C til 25 °C og tilbage til 2 °C) på alle faste medier.

Plademedier med overskudsfugt skal tørres inden inokulering, fx ved at anbringe dem med lågene på klem i en ren inkubator ved 30 til 37 °C i højst en time. Medierne må ikke udtørres! Den eksakte eksponeringstid afhænger af luftfugtigheden i inkubatoren.

Opbevaringen af den åbnede emballage er også angivet. Den angivne opbevaring af åbne stakke af plademedier henviser til opbevaring i køleskab på et rent sted.

Brugeren skal undgå kontaminering under opbevaring, fx ved at pakke pladerne i rene plastikposer.

Hvad angår opbevaringen af medier på flasker fra åbnede emballageenheder gælder holdbarheden angivet på pakningsmærkaten og på flaskerne, så længe de ikke er blevet åbnet.

Alle medier klar til brug eller delvist færdiggjorte skal opbevares i mørke.

Hvis de udsættes for kunstigt lys, sollys eller ultraviolet lys i længere tid, kan alle mediers funktion nedsættes. Mange medier, som fx chromogene medier, endoagar og andre, er specielt følsomme for stærk belysning før og under inkubation.

Alle **BD** medier klar til brug eller delvist færdiggjorte kan bruges op til **udløbsdatoen** og inkuberes det anbefalede antal gange.

For eksempel omfatter dette inokulering af et mykobakterielt medium på dets udløbsdato, efterfulgt af fire eller seks ugers inkubation. Undgå, at mediet udtørres under inkubation.

Udløbsdatoen (timeglassymbol) er angivet på de enkelte beholdere og på pakningsmærkaten. Formatet År-Måned-Dag bruges på alle produkter, fx betyder 2004-06-09 den 9. juni 2004.

BRUGERKVALITETSKONTROL

De kvalitetskontrolprocedurer, der angives i **Brugsanvisningen**, skal udføres af brugeren. De teststammer, der nævnes der, svarer sædvanligvis, men ikke altid, til de stammer, der bruges i kvalitetskontrolprocedurer til producentens frigivelsestest, som kan omfatte yderligere belastningsstammer. Ofte bruges stammerne fra American Type Culture Collection (= ATCC; www.atcc.org), men stammer fra europæiske samlinger, fx Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (= DSM; www.dsmz.de), eller National Collection of Type Cultures (= NCTC; www.hpacultures.org.uk) bruges også.

Se venligst **Analysecertifikatet** for det respektive produktparti, som angiver den faktiske teststammegruppe og resultater anvendt til frigivelse af partiet.

Procedurerne til udførelse af en mikrobiologisk funktionstest kan være afhængig af den fulgte type medium og metode.

Brug altid friske teststammesuspensioner, der er præpareret af kulturer, der har stået natten over i passende væskemedier (fx tryptisk eller **Trypticase Soy Broth** (sojabouillon), til aerobe mikroorganismer og Schaedler bouillon med hæmin og vitamin K til anaerobe mikroorganismer). Alternativt kan friske suspensioner bruges, der er præpareret fra kulturer, der har stået natten over på plademedier. Prækultureernes inkubationstider skal forlænges, hvis teststammen vokser langsomt.

Til **testning af et plademediums næringsevne** i overensstemmelse med CLSI standard M22-A2 fortyndes inokulumsuspensionen, så der fås 1 til 2×10^4 CFU pr. plade.⁴ Der bør bruges et tifold lettere inokulum, hvis dette ikke giver isolerede kolonier. I overensstemmelse med DIN EN 12322 testes de væksthæmmende egenskaber med 100 til 1000 CFU eller en sufficient mængde CFU, så der fås isolerede kolonier med en passende udstrykningspladeteknik.⁵ Hvis stammerne inokuleres med en kvantitativ pladeteknik, er 50 til 500 CFU pr. plade normalt passende til at opnå et tælleligt antal kolonier. Efter retningslinierne fra USP og EP skal 10 til 100 CFU pr. plade (eller beholder) bruges.^{6,7}

Til **testning af et selektivt plademediums hæmmende evne** skal der i overensstemmelse med CLSI M22 bruges 1 til 2×10^5 CFU pr. plade til inokulering, og ca. 10^4 eller mere CFU i overensstemmelse med DIN EN 12322.^{4,5} Meget høje inokulater af uønskede stammer kan "overlæsse" mediet, som så kan føre til "gennembruds" vækst.

Til sammenligning skal der altid inkluderes et vækstreferencemedium, som bør være et nonselektivt medium, som giver optimal vækst af alle teststammer. Til aerobe stammer er Columbia Agar with 5% Sheep Blood (Columbia agar med 5 % fåreblod) egnet, til kræftstammer (som *Neisseria gonorrhoeae*) er Chocolate Agar (chokoladeagar) egnet, til anaerobe stammer er Schaedler Agar with Vitamin K and 5% Sheep Blood (Schaedler agar med vitamin K og 5 % fåreblod) egnet, og til svampe er Sabouraud Glucose Agar (Sabouraud glukoseagar) egnet til dette formål. Hvis der testes kvantitativt, bør væksten af de "ønskede" stammer på testmediet være mindst 70 % af væksten på referencemediet. På selektive medier skal væksten af "uønskede" stammer være delvis til fuldstændig hæmmet. Graden af hæmning afhænger af mediet og stammerne, men væksten reduceres sædvanligvis med en faktor på 10^3 til 10^4 (eller mere) som sammenlignet med væksten på det nonselektive vækstreferencemedium.

Til testning af **vækstfunktionen af medier i hætteglas eller flasker** bruges sammenlignelige metoder. Mindre reagensglas og hætteglas bør inokuleres med 10^5 cfu i overensstemmelse med CLSI M22 standarden.⁴ EP, USP og DIN EN 12322 procedurerne kræver de same inokulater som angivet ovenfor

til plademedierne.⁵⁻⁷ Hætteglas eller flasker med fyldevolumener over 10 mL bør først afmåles i 5 eller 10 mL mængder i sterile glas og testes på samme måde.

Inkubér og inspicér de inokulerede medier som beskrevet for det respektive produkt.

Bestem **pH** potentiometrisk ved stuetemperatur (25° C) for at overholde værdierne, der er specificeret på produktet. pH værdien, der er opgivet i **Brugsanvisning** dokumentet, er den værdi, der er bestemt efter fremstilling af produktet. Den kan variere lidt efter holdbarheden og kan være afhængig af det anvendte elektrodesystem.

Produktets sterilitet kan testes af brugeren ved at inkubere flere plader (eller beholdere, fx flasker) ved en egnet inkubationstemperatur (fx 28 til 35 °C) i 5 til 7 dage, eller som det er passende for de procedurer, der skal følges.^{6,7}

Flydende medier med en naturlig turbiditet skal videredyrkes på et egnet fast medium (fx **Trypticase Soy Agar** (Trypticase sojaagar plader) efter inkubationen for at bestemme sterilitet. Ligeledes kan Gram stammer og mikroskopi fra medierne være værdifulde i tilfælde af tvivl.

PROCEDURE

I **Vedlagte materialer** er medierne og beholdertypen angivet. De fleste **BD** plademedier klar til brug leveres i **BD Stacker** 90 mm skåle, der er designet til at gribe ind i hinanden for at minimere faren for, at stabler skrider. Visse **BD** plademedier klar til brug leveres i forskellige typer skåle, som fx opdelte skåle (=to-plader), kontaktskåle, 150 mm skåle eller firkantede skåle, afhængig af anvendelsen.

BD medier klar til brug eller delvist færdiggjorte i flasker eller hætteglas fås i mange forskellige størrelser, fyldevolumener og med forskellige lukninger, afhængig af brug og anvendelse. Her gives oplysninger om produktets mikrobiologiske tilstand:

Plademedier, dyppeobjektglas og visse medier i flasker eller hætteglas fyldes aseptisk; de "styres mikrobiologisk". For disse medier tillader DIN EN 12322 standarden en kontamineringsrate på $\leq 5 \%$.⁵ Interne frigivelseskriterier er imidlertid strengere.

Medier i flaske, der er steriliseret i den endelige beholder, er mærket med symbolet "steril", sammen med symbolet "termometer" (for "steriliseret ved autoklaving"). For disse medier gælder kriterierne for sterile produkter i overensstemmelse med EP.⁶

I **Materialer, der ikke er vedlagt**, er opgivet specielt udstyr, der er nødvendigt for at udføre testen. Sædvanlige materialer, som fx inokuleringsløkker, spredere, pipetter, inkubatorer osv.) angives ikke her, eftersom de er generelt nødvendige i et mikrobiologisk laboratorium.

I **Præparattyper** angives præparatet(erne), der skal bruges med det specifikke medium. Hvis det er nødvendigt, opgives specielle krav til indsamling og transport af præparatet i **Indsamling og transport**.

Præparater skal indsamles og transporteres på passende vis, ved hjælp af egnede transportmedier for at undgå udtørring, overdriven eksponering for oxygen eller overvækst af kommensalorganismer. Ligeledes er tiden, der påkræves fra indsamling til behandling af præparaterne i laboratoriet, vigtig, og skal være så kort som muligt. Læs den relevante litteratur for at få detaljerede oplysninger om indsamlings- og transportmetoderne for specifikke patogener.⁸

I **Testprocedure** er beskrevet generelle og specifikke oplysninger for inokulationen af det specifikke medium, og, hvis det er nødvendigt, brugen af yderligere medier.

Inokulering af medier

I mikrobiologi er det god laboratoriepraksis, at inokulering af medier med præparatet udføres ved at udstryge for isolation, idet der anvendes tre udstrygningstrin på hver plade med en resteriliseret løkke inden hvert udstrygningstrin. Hvis der bruges præsteriliserede løkker, skal der anvendes en særskilt løkke for hvert udstrygningstrin. Hvis materialet dyrkes direkte fra en podepind, kan podepinden rulles over et lille område på overfladen ved kanten. Derefter udstryges for isolation fra dette inokulerede område med løkker, idet der anvendes to udstrygningstrin.

Denne teknik tillader isolation af enkelte kolonier fra blandede kulturer. Rene kulturer, der er taget fra enkelte kolonier, er obligatoriske til identifikation og følsomhedstestning af isolaterne.

Ligeledes nævnes inkubationstemperaturen og –tiden her.

Det er god laboratoriepraksis at inspicere den faktiske **temperatur i inkubatorerne** jævnligt. Temperaturer under og over den givne værdi kan føre til tab af organismernes levedygtighed i kulturerne, til nedsat vækst eller til ikke-reproducerbare resultater.

Under inkubation af plademedier klar til brug skal man sørge for tilstrækkelig **fugtighed**, især hvis de inkuberes i længere tid. I dette tilfælde bør inkubatorer med luftcirkulation ikke bruges, da medier kan udtørre signifikant, især når luftfugtigheden i laboratoriet er lav. Pladekulturer af mikroorganismer, der er tilpasset fugtige miljøer, fx *Legionella*, skal inkuberes i fugtede kamre eller krukker. Plader kan også lukkes med klæbende tape for at nedsætte fordampning. Dog skal minimal luftudskiftning stadig være mulig.

Dette gælder også for medier i reagensglas: skruelåg skal altid være løsnet lidt under inkubation.

I afsnittet **Resultater** gives oplysninger om organismernes udseende på det specifikke medium. Ved generel isolering og vækstmedier kan disse oplysninger ikke gives for alle organismer, der er i stand til at vokse på mediet. Læs den relevante litteratur.⁹

Sluttelig opgives specifikke oplysninger i **Beregning og tolkning af resultater**. Dette afsnit kan findes, hvis en diagnose afhænger af mængden af patogenerne i et præparat. Til eksempel gælder dette for medier som CLED Agar, der bruges til at tælle bakterier i urin.

FUNKTIONSDATA OG PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER

Der redegøres for mediets funktion, og hvis det er relevant, opgives de organismetyper, der kan isoleres med mediet, sammen med beviskilder. For netop eller nylig introducerede medier kan resultater fra funktionsevalueringer være inkluderet her.

Det skal understreges, at et enkelt medium kun sjældent er tilstrækkeligt til at påvise alle organismer, der har potentiel betydning i et præparat eller en prøve. Desuden kan der forekomme enkelte stammer inden for en mikrobepopulation, som ikke vokser ordentligt på et vist medium, selvom mediet er egnet til påvisning af de fleste andre stammer i denne art. Derfor inokuleres to eller tre forskellige medier samtidigt for de fleste præparater og prøver, eller et nonselektivt medium kombineres med et eller to selektive medier, eller to selektive medier med forskellige grader af selektivitet bruges.

Desuden nævnes her specifikke kendte **begrænsninger i anvendelsen** af mediet.

For de fleste medier er yderligere tests nødvendige for at opnå endelig identifikation af de isolerede organismer.

LITTERATUR

Her opgives litteraturen anført i dokumentet.

EMBALLERING/BESTILLING

Her nævnes de tilgængelige **katalognumre**, **pakningsstørrelser** og, hvis relevant, de forskellige formater.

YDERLIGERE OPLYSNINGER

Her opgives yderligere oplysninger, herunder producentens adresse (symbol for "fabrik"). Endeligt opgives varemærker nævnt i det specifikke dokument.

LITTERATUR ANFØRT I DENNE GENERELLE BRUGSANVISNING

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 98/39/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 er et varemærke tilhørende 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