

OGÓLNA INSTRUKCJA DOTYCZĄCA STOSOWANIA Pożywki gotowe do użycia i częściowo przygotowane

Niniejszy dokument zawiera informacje o strukturze dokumentów składających się na „Instrukcje dotyczące stosowania” oraz dodatkowe informacje o stosowaniu pożywek gotowych do użycia i częściowo przygotowanych **BD**.

Dodatkowe informacje, których nie ma w poszczególnych „Instrukcjach dotyczących stosowania”, zamieszczono w ramach tekstowych w niniejszym dokumencie.

Nagłówek na stronie 1 wszystkich dokumentów zawiera znak **CE**, jeżeli produkt stanowi IVD według Europejskiej Dyrektywy IVD¹ Podane są także: **numer i wersja dokumentu** (np. PA-**123456.01** dla pożywki na płytce i BA-**123456.01** dla pożywki w butelce) oraz **data uaktualnienia** (miesiąc i rok). Numer i wersja dokumentu podane są także w **stopce** na każdej stronie.

Następnie podana jest **nazwa produktu**. Niektóre „Instrukcje dotyczące stosowania” zawierają opis kilku pożywek o podobnym składzie i zastosowaniu.

PRZEZNACZENIE

Wskazano obszar zastosowania. Przy używaniu do innych celów pożywka lub procedura musi być zatwierdzona przez użytkownika.

Firma **BD Diagnostic Systems** nie ponosi odpowiedzialności za skutki użycia produktów do innych celów, innych drobnoustrojów lub w innych procedurach niż zalecane w „Instrukcjach dotyczących stosowania”.

ZASADY I OBJAŚNIENIE PROCEDURY

W tym rozdziale znajdują się informacje o zasadach metody („metody mikrobiologicznej”). Ponadto wyjaśnia się pochodzenie i rozwój pożywki, zasady procedury oraz funkcje poszczególnych składników, wymienionych w części „**ODCZYNNIKI**”.

ODCZYNNIKI

Ten rozdział zawiera skład oraz pH produktu.

W tabeli składu ilość składników [g, mg, µg, ml, IU, U itd.] wymienia się tylko jeden raz, i potem tylko w przypadku zmiany. Poniżej podano **przykład**:

BD CHROMagar™ O157

Skład* w przeliczeniu na jeden litr wody oczyszczonej

Chromopepton	22,0 g	
Chlorek sodu	5.0	← amount in [g]
Telluran potasu	2.5 mg	
Cefiksym	0.05	← amount in [mg]
Cefsulodyna	4.0	← amount in [mg]
Specjalna mieszanka chromogenów selektywnych	1.0 g	
Agar	12.0	← amount in [g]
pH: 7,1 +/- 0,2		

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

Gotowe do użycia lub częściowo przygotowane pożywki **BD**, oznaczone symbolem **IVD**, są przeznaczone do użytku w diagnostyce *in vitro* według definicji podanej w Europejskiej Dyrektywie dot. Aparatury do Diagnostyki *In Vitro*¹. Można je także stosować w innych dziedzinach mikrobiologii, zgodnie z informacjami dotyczącymi danego produktu.

Produkty są przeznaczone do użycia wyłącznie przez wykwalifikowany personel, o odpowiednim wykształceniu lub przeszkoleniu. Niedopuszczalne jest ich wykorzystanie do samodzielnego wykonywania testów przez pacjentów.

Produkty z informacją na etykiecie „Do użytku laboratoryjnego” przeznaczone są do stosowania tylko w przemysłowej lub ogólnej mikrobiologii, biotechnologii lub higienie ogólnej i nie wolno ich stosować do obróbki próbek klinicznych pochodzących od ludzi.

Nie należy używać produktu, jeżeli wykazuje oznaki skażenia mikrobiologicznego, odbarwienia, wyschnięcia, pęknięcia lub inne zjawiska wskazujące na pogorszenie jakości.

Przed użyciem produktu, w czasie jego używania i po jego użyciu przestrzegać zasad aseptyki przy kontakcie z próbkami.

Bezpieczeństwo biologiczne i chemiczne produktu

Rozdział ten może także zawierać informacje na temat swoistych zagrożeń biologicznych i (lub) chemicznych, oznaczonych odpowiednimi symbolami wraz z odpowiednimi zwrotami R (*risk* – zagrożenie) i S (*safety* – bezpieczeństwo)².

Jeżeli chodzi o ryzyko związane ze stosowaniem materiałów pochodzenia zwierzęcego, **BD** zobowiązuje się do tego, aby takie materiały pozyskiwać głównie z Australii, Nowej Zelandii i Stanów Zjednoczonych. W żadnym w tych krajów nie opisywano do tej pory żadnych przypadków BSE (encefalopatii gąbczastej bydła) u bydła nieimportowanego. **BD** pozyskuje materiały pochodzenia zwierzęcego także w innych krajach [takich jak np. Argentyna, Brazylia, Kolumbia, Meksyk, Republika Południowej Afryki i Urugwaj]. W żadnym w tych krajów nie opisywano do tej pory żadnych przypadków BSE u bydła nieimportowanego.

Zagrożenia biologiczne pochodzące od próbek i drobnoustrojów hodowanych na pożywkach mikrobiologicznych

Przestrzegać ustalonych środków ostrożności, służących ochronie przed zagrożeniem mikrobiologicznym. Z próbkami i hodowlami drobnoustrojów należy się obchodzić zgodnie z miejscowymi zaleceniami i przepisami dotyczącymi zagrożenia mikrobiologicznego. Zgodnie z Dyrektywą Europejską 2000/54/EC, większość patogennych bakterii i grzybów należy do grupy ryzyka 2. Grupę ryzyka 3** utworzono specjalnie dla *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* (szczepy powodujące krwotoczne zapalenie jelit – EHEC; określane także niekiedy akronimem STEC = *E. coli* wytwarzające toksynę Shiga), *Shigella dysenteriae* (typ 1) i kilku innych bakterii i grzybów. Oprócz kilku innych patogennych bakterii i grzybów do grupy ryzyka 3 należą wszystkie gatunki *Brucella*, *Mycobacterium tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. ulcerans* i *Histoplasma capsulatum* 3. Szczegóły można znaleźć w aneksie III do Dyrektywy 2000/54/EC³. Z tą i z innymi dyrektywami europejskimi można zapoznać się na stronie internetowej www.europa.eu/index.htm

Utylizacja produktów

Po użyciu, a przed utylizacją, pojemniki z próbkami i wszystkie zanieczyszczone materiały, w tym użyte pożywki hodowlane i zanieczyszczone pojemniki na hodowlę, należy wyjaławiać w autoklawie przez 20-30 min w temperaturze 121°C lub wyższej (jeżeli konieczne byłoby wyjałowienie większej objętości utylizowanego materiału) albo spalać zgodnie z zatwierdzonymi procedurami.

WARUNKI I OKRES PRZECHOWYWANIA

Gotowe do użycia pożywki **BD** należy przechowywać w temperaturze od +2 do +8° C. Pożywki w butelkach i płytki zanurzeniowe należy przechowywać w tej samej lub w innej temperaturze.

Temperatura przechowywania jest podana nie tylko w „Instrukcji dotyczącej stosowania” danego produktu, lecz także na etykiecie opakowania lub na pudełku z produktem.

Nie zamrażać i nie przegrzewać.

Zamrożenie może spowodować, że żele agarowe nie będą się zupełnie nadawać do użytku, a w pożywkach płynnych może dojść do wytrącania. Przetrzywanie produktów przez dłuższy czas w temperaturze wyższej od wskazanej temperatury może doprowadzić do pogorszenia jakości składników pożywek. Dotyczy to szczególnie środków selektywnych, takich jak środki przeciwko drobnoustrojom. Po następujących po sobie skrajnych zmianach temperatury (np. od 2°C do 25°C i z powrotem do 2°C) we wszystkich pożywkach stałych może pojawić się nadmierna wilgoć, spowodowana kondensacją wody. Pożywki na płytkach z nadmierną ilością wilgoci należy przed inokulacją wysuszyć, np. poprzez umieszczenie ich z otwartymi wieczkami w czystym inkubatorze w temperaturze 30-37°C na czas nie dłuższy niż jedna godzina. Nie przesuszać pożywek! Dokładny czas ekspozycji zależy od wilgotności powietrza w inkubatorze.

Wskazano także, jak **przechowywać otwarte opakowania**. Informacje na temat przechowywania otwartych zapasów pożywek na płycie odnoszą się do przechowywania w lodówce w czystym miejscu.

Użytkownik powinien zapobiegać zanieczyszczeniu w czasie przechowywania, np. poprzez pakowanie płytek w czyste torebki plastikowe.

Pożywek w butelkach z otwartego opakowania dotyczy czas przechowywania podany na etykiecie opakowania i na butelkach i fiolkach, o ile one same nie zostały otwarte.

Wszystkie gotowe do użycia lub częściowo przygotowane pożywki należy przechowywać w ciemnym miejscu.

W przypadku dłuższej ekspozycji na sztuczne światło, światło słoneczne lub promieniowanie UV może dojść do zmniejszenia wydajności każdej pożywki. Niektóre pożywki, takie jak pożywki chromogenne, Endo Agar i niektóre inne są szczególnie czułe na silne naświetlenie przed inkubacją i w czasie inkubacji.

Wszystkie gotowe do użycia lub częściowo przygotowane pożywki **BD** można stosować do upływu **daty ważności** i inkubować przez zalecany czas.

Obejmuje to np. inokulację pożywki do hodowli prątków w dzień upływu terminu ważności i następnie jej inkubację przez cztery do sześciu tygodni. Unikać wysuszenia pożywki w czasie inkubacji. Datę ważności (symbol klepsydry) podano na indywidualnych pojemnikach i na etykiecie opakowania. W odniesieniu do wszystkich produktów datę podano w formacie rok-miesiąc-dzień, tak więc np. 2004-06-09 oznacza 9 czerwca 2004.

KONTROLA JAKOŚCI PRZEZ UŻYTKOWNIKA

Użytkownik powinien dokonywać kontroli jakości według procedur opisanych w „**Instrukcji dotyczącej stosowania**”. Wymienione szczepy testowe zwykle, lecz nie zawsze, odpowiadają szczepom stosowanym do kontroli jakości w testach wykonywanych przez producenta przed wypuszczeniem pożywki na rynek (czasami producent może stosować także dodatkowe szczepy). Najczęściej stosuje się szczepy z Amerykańskiego Depozytu Typów Hodowli (American Type Culture Collection (= ATCC; www.atcc.org), czasami jednak wykorzystuje się szczepy z depozytów europejskich, takich jak np. the Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (= DSM; www.dsmz.de) lub National Collection of Type Cultures (= NCTC; www.hpacultures.org.uk).

Prosimy zapoznać się z **certyfikatem analizy** danej partii produktu, gdzie wymieniono zastosowane do testów szczepy oraz wyniki testów wykonanych przed wypuszczeniem serii na rynek.

Procedury prowadzenia testu wydajności mikrobiologicznej mogą zależeć od typu pożywki i zastosowanej metody.

Używać zawsze świeżej zawiesiny szczepu testowego, sporządzonej z hodowli prowadzonej przez noc, w odpowiedniej pożywce płynnej (takiej jak np. Tryptic lub bulion sojowy **Trypticase** do drobnoustrojów tlenowych, a bulion Schaedlera z heminą i witaminą K do drobnoustrojów beztlenowych). Zamiast tego można stosować świeże zawiesiny, sporządzone z hodowli prowadzonych przez noc na pożywkach posianych na płytce. W przypadku powolnego wzrostu szczepów testowych czas hodowli wstępnej należy wydłużyć.

Do **badania zdolności odżywczej pożywki posianej na płytkę** zgodnie z normą M22 CLSI, rozcieńczyć zawiesinę inokulum, aby uzyskać $1-2 \times 10^4$ CFU na płytkę⁴. Jeżeli nie uzyska się tym sposobem izolowanych kolonii, należy użyć inokulum dziesięciokrotnie słabszego. Zgodnie z DIN EN 12322, właściwości podtrzymywania wzrostu bada się z użyciem 100-1000 CFU lub ilości CFU dostatecznej do uzyskania izolowanych kolonii odpowiednią techniką płytki z pasmami⁵. Jeżeli szczepy inokuluje się ilościową techniką posiewania, do uzyskania policzalnej liczby kolonii potrzeba zwykle 50-500 CFU na płytkę. Zgodnie z zaleceniami zawartymi w USP i EP konieczne jest stosowanie 10-100 CFU na płytkę (lub pojemnik)^{6,7}.

Do **badania zdolności hamującej selektywnej pożywki posianej na płytkę**, zgodnie z M22 CLSI, do inokulacji należy stosować $1-2 \times 10^5$ CFU na płytkę, a zgodnie z DIN EN 12322 – około 10^4 lub więcej CFU^{4,5}. Bardzo duże inokulum lub obecność niepożądanych szczepów może „przeładować” pożywkę, prowadząc do wzrostu „przebijającego”.

Dla porównania należy zawsze stosować pożywkę o wzroście odniesienia (referencyjnym); powinna to być pożywka nieselektywna, zapewniająca optymalny wzrost wszystkich szczepów testowych. Nadają się do tego celu: do szczepów tlenowych – agar Columbia z dodatkiem 5% krwi owczej; do szczepów szybko rosnących (takich jak *Neisseria gonorrhoeae*) – agar czekoladowy; do drobnoustrojów beztlenowych – agar Schaedlera z

dotądkiem witaminy K i 5% krwi owczej; do grzybów – agar glukozowy Sabouraud. Przy testach ilościowych wzrost „pożądaných” szczepów na pożywce testowej powinien wynosić co najmniej 70% wzrostu na pożywce referencyjnej. Na pożywce selektywnej wzrost szczepów „nieselektywnych” musi być częściowo lub całkowicie zahamowany. Stopień hamowania zależy od pożywki i od szczepów, zwykle jednak wzrost ulega zredukowaniu o współczynnik wynoszący 10^3 - 10^4 (lub więcej) w porównaniu ze wzrostem na referencyjnej, nieselektywnej pożywce.

Przy badaniu **wydajności wzrostu pożywki w fiolkach lub butelkach** stosuje się porównywalne metody. Mniejsze próbki i fiolki należy inokulować 10^5 cfu zgodnie z normą M22 CLSI⁴. EP, USP i DIN EN 12322 wymagają stosowania takiego samego inokulum, jak opisane powyżej dla pożywek posianych na płytkę⁵⁻⁷. Z fiolek lub butelek o objętości napełniania powyżej 10 mL należy najpierw pobrać próbki o objętości 5 lub 10 mL do jałowych próbek i badać w taki sam sposób.

Inokulowane pożywki inkubować i oceniać w sposób opisany dla danego produktu.

Potencjometrycznie oznaczyć wartość **pH** w temperaturze pokojowej (25° C), aby sprawdzić, czy jest zgodna z wartością wyszczególnioną dla danego produktu. Zakres pH podany w „Instrukcji dotyczącej stosowania” jest zakresem ustalonym po wyprodukowaniu pożywki. Może on w okresie przechowywania ulegać nieznacznym wahaniom i może być zależny od zastosowanego układu elektrod.

Użytkownik może badać **jałowość produktu**, inkubując kilka płytek (lub pojemników, np. butelek) w odpowiedniej temperaturze inkubacji (np. 28-35°C) przez 5-7 dni lub w sposób właściwy dla danej procedury^{6,7}.

Z pożywek płynnych o naturalnej mętności należy po inkubacji wykonać podhodowle na odpowiednią pożywkę stałą (np. na płytki z agarem sojowym **Trypticase**) w celu ustalenia jałowości. W przypadkach wątpliwych w rozstrzygnięciu może pomóc wykonanie barwienia metodą Grama i ocena mikroskopowa pożywki.

PROCEDURA

W rozdziale „**Dostarczane materiały**” wymieniono pożywkę i typ pojemnika. Większość gotowych do użycia, posianych na płytki pożywek **BD** dostarcza się w szalkach **Stacker BD** o średnicy 90 mm, wykonanych tak, aby zachodziły na siebie, aby zmniejszyć niebezpieczeństwo poślizgu przy układaniu ich jedna na drugiej. Niektóre gotowe do użycia, posiane na płytki pożywki **BD** dostarcza się w innego typu szalkach, np. w szalkach podzielonych (podwójnych), kontaktowych, szalkach o średnicy 150 mm lub szalkach kwadratowych, w zależności od przeznaczenia.

Gotowe do użycia lub częściowo przygotowane pożywki **BD** w butelkach lub fiolkach są dostępne w wielu rozmiarach i objętościach napełniania, są też zaopatrzone w różne zamknięcia, w zależności od ich przeznaczenia.

W tym miejscu podana jest informacja na temat stanu mikrobiologicznego produktu:

Pożywki posiane na płytki, szkiełka do zanurzania i niektóre pożywki w butelkach lub fiolkach są napełniane aseptycznie, to znaczy „kontrolowane mikrobiologicznie”. W przypadku tych pożywek norma DIN EN 12322 dopuszcza współczynnik zanieczyszczenia $\leq 5\%$ ⁵. Wewnętrzne kryteria dopuszczenia produktu do sprzedaży są jednak bardziej rygorystyczne.

Pożywki w butelkach, wyjaławiane w końcowym pojemniku, są oznaczane symbolem „jałowe” wraz z symbolem termometru (co oznacza wyjałowienie w autoklawie). Tych pożywek dotyczą kryteria jałowości produktu według EP⁶.

W rozdziale „**Materiały niedostarczane**” podano sprzęt niezbędny do przeprowadzenia testu. Nie wymieniono tutaj materiałów stosowanych rutynowo, takich jak ezy do inokulacji, szpatułki do rozprowadzania, aparaty do pipetowania, ponieważ są one standardowym wyposażeniem każdej pracowni mikrobiologicznej.

W rozdziale „**Typy próbek**” podano rodzaj (lub rodzaje) próbek, które można stosować z daną pożywką. Ewentualne specjalne wymagania dotyczące pobierania i transportu podano w rozdziale „**Pobieranie i transport**”.

Konieczne jest odpowiednie pobieranie i transportowanie próbek, z zastosowaniem odpowiednich pożywek transportowych, tak aby uniknąć wysuszenia, nadmiernej ekspozycji na tlen lub przerostu drobnoustrojami komensalnymi. Istotny jest także czas upływający od pobrania do obróbki próbek w laboratorium i należy dążyć do jego maksymalnego skrócenia. Szczegóły metod pobierania i transportu dla danego patogenu można znaleźć w stosownym piśmiennictwie⁸.

W rozdziale „**Procedura testowa**” podano ogólne i szczegółowe informacje na temat inokulacji danej pożywki i stosowania dodatkowych pożywek, jeżeli jest to niezbędne.

Inokulacja pożywek

Zgodnie z dobrą praktyką laboratoryjną w mikrobiologii inokulację pożywek próbką wykonuje się poprzez rozprowadzenie materiału celem izolowania, nakładając na każdą płytkę trzy pasma ezy wyjaławianą po nałożeniu każdego pasma. Jeżeli stosuje się ezy wyjaławiane fabrycznie, należy użyć oddzielnej ezy do każdorazowego rozprowadzenia. Ewentualnie, jeżeli materiał jest posiewany bezpośrednio z wymazówki, można przetoczyć wymazówkę po niewielkiej powierzchni na krawędzi płytki, a następnie wykonać posiew poprzez rozprowadzenie materiału po podłożu. Technika ta umożliwia wyizolowanie pojedynczych kolonii z hodowli mieszanych. Do identyfikacji i badań wrażliwości izolatów niezbędne jest uzyskanie czystych hodowli z pojedynczych kolonii.

W tym miejscu podana jest także temperatura i czas inkubacji.

Zgodnie z dobrą praktyką laboratoryjną należy regularnie nadzorować rzeczywistą **temperaturę inkubatorów**. Hodowla w temperaturze poniżej lub powyżej określonego zakresu może prowadzić do utraty żywotności drobnoustrojów w hodowlach, zmniejszenia wzrostu lub niemożności uzyskania powtarzalnych wyników. W czasie inkubacji gotowej do użycia pożywki posianej na płytkę, należy zapewnić odpowiednią **wilgotność**, zwłaszcza przy długotrwałej inkubacji. W takim przypadku nie należy stosować inkubatorów z krążeniem powietrza, ponieważ może dojść do znacznego wysuszenia pożywki, szczególnie jeżeli wilgotność powietrza w laboratorium jest mała. Hodowle na płytkach drobnoustrojów dostosowanych do środowiska wilgotnego, takich jak np. *Legionella*, należy inkubować w nawilżanych komorach lub naczyniach. Można również zaklejać płytki taśmą samoprzylepną w celu zmniejszenia parowania. Konieczne jest jednak zachowanie minimalnej wymiany gazowej. Uwaga ta dotyczy także pożywek w probówkach: zakręcana nakrętka powinna być zawsze nieco rozszczelniona na czas inkubacji.

W rozdziale „**Wyniki**” podane są informacje na temat wyglądu drobnoustrojów na danej pożywce. W przypadku pożywek ogólnego przeznaczenia (do izolowania i wzrostu wielu rodzajów drobnoustrojów) nie jest możliwe dostarczenie takich informacji dla wszystkich drobnoustrojów zdolnych do wzrostu na danej pożywce. Należy wtedy sięgnąć do odpowiedniego piśmiennictwa⁹.

Na koniec, w rozdziale „**Obliczanie i interpretacja wyników**”, podane są specyficzne informacje. Rozdział taki umieszczono wtedy, gdy rozpoznanie zależy od ilości danego drobnoustroju w próbce. **Odnosi się to np. to takich pożywek, jak agar CLED, stosowany do ilościowego oznaczania bakterii w moczu.**

CHARAKTERYSTYKA WYNIKÓW I OGRANICZENIA DOTYCZĄCE PROCEDURY

Omawia się wydajność pożywki i (jeżeli dotyczy) typy drobnoustrojów, które można izolować za pomocą danej pożywki, wraz z materiałami źródłowymi, w których można znaleźć potwierdzenie tych wiadomości. W przypadku pożywek nowych lub niedawno wprowadzonych na rynek można w tym miejscu znaleźć wyniki oceny wydajności.

Należy podkreślić, że rzadko do wykrycia wszystkich potencjalnie istotnych drobnoustrojów w próbce wystarcza zastosowanie jednej tylko pożywki. Istnieją również w populacji drobnoustrojów pojedyncze szczepy, które nie rosną dostatecznie na danej pożywce, mimo że jest to pożywka odpowiednia do wykrywania większości innych szczepów tego gatunku. Dlatego też w przypadku większości próbek dokonuje się jednoczesnej inokulacji dwóch lub trzech różnych pożywek albo pożywki nieselektywnej i jednej lub dwóch pożywek selektywnych, albo dwóch pożywek selektywnych o różnym stopniu selektywności.

W tym miejscu podaje się również specyficzne znane **ograniczenia zastosowania** pożywki. Przy stosowaniu większości pożywek do uzyskania ostatecznej identyfikacji wyizolowanych drobnoustrojów konieczne jest przeprowadzenie dalszych badań.

PIŚMIENNICTWO

W tym rozdziale podaje się piśmiennictwo cytowane w dokumencie.

PAKOWANIE / DOSTĘPNOŚĆ

Tu podaje się **numery katalogowe, wielkości opakowań** i (jeżeli dotyczy) różne formaty dostępnych produktów.

DODATKOWE INFORMACJE

W tym miejscu podane są dalsze informacje, w tym adres producenta (z symbolem przedstawiającym fabrykę). Na koniec podaje się znaki towarowe i handlowe wymieniane w danym dokumencie.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE W NINIEJSZEJ „OGÓLNEJ INSTRUKCJI DOTYCZĄCEJ STOSOWANIA”

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