

ALLMÄN BRUKSANVISNING

Odlingsmedier – användningsklara och delvis färdigställda

Detta dokument innehåller information om uppläggningsen av **Bruksanvisningar** och innehåller ytterligare information om användningen av **BD:s** användningsklara och delvis färdigställda medier.

Ytterligare information som ej finns medtagen i de enskilda bruksanvisningarna ges här i dessa textutor.

Huvudet på sidan 1 i alla dokument innehåller **CE-märket**, om produkten är en **IVD**-produkt i enlighet med det europeiska IVD-direktivet.¹ **Dokumentets nummer och version** (t.ex., **PA-123456.01** för medier på platta, och **BA-123456.01** för medier på flaska) samt **revisionsdatum** (månad och år) anges också. Dokumentnummer och version upprepas i **foten** på varje sida.

Därefter anges **produktnamnet**. Vissa **Bruksanvisningar** innehåller beskrivningar av flera odlingsmedier med liknande sammansättningar och tillämpningar.

AVSEDD ANVÄNDNING

Användningsområdet anges. Om mediet eller förfarandet används för olika tillämpningar, måste dessa valideras av användaren.

BD Diagnostic Systems påtar sig inte något ansvar om produkten används för tillämpningar, mikroorganismer eller förfaranden som inte rekommenderas i **Bruksanvisningen**.

PRINCIPER FÖR OCH FÖRKLARING AV METODEN

I detta avsnitt anges principen för metoden ("Mikrobiologisk metod"). Dessutom ges information om historiken och utvecklingen av odlingsmediet, samt förklaringar av principerna för förfarandet och funktionerna hos ingredienserna som anges under **REAGENSER**.

REAGENSER

Detta avsnitt innehåller information om produktens sammansättning och pH-värde.

I sammansättningstabellen anges måttenheterna för mängderna av ingredienserna (g, mg, µg, mL, IE, E, etc.) endast en gång och därefter endast när de ändras. Ett **exempel** visas nedan:

BD CHROMagar O157

Sammansättning* per liter aqua purif.

Kromopepton	22,0 g	
Natriumklorid.	5,0	← <i>mängd i [g]</i>
Kaliumtellurit	2,5 mg	
Cefixim	0,05	← <i>mängd i [mg]</i>
Cefsulodin	4,0	← <i>mängd i [mg]</i>
Specialblandning - kromogena och selektiva agens	1,0 g	
Agar	12,0	← <i>mängd i [g]</i>
pH: 7,1 ± 0,2		

VIKTIGT

Om produkten är märkt **IVD**, är **BD**:s användningklar och delvis färdigställda odlingsmedier avsedda för in vitro diagnostik, enligt definitionen i det europeiska direktivet om medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik.¹ De kan också användas inom andra mikrobiologiska områden, i enlighet med vad som anges för respektive produkt.

Dessa produkter är endast avsedda för yrkesmässigt bruk och får endast användas av yrkesutbildad personal eller personal som genomgått speciell utbildning. De får inte användas för självtestning av patienter.

Om produkterna är märkta "För laboratoriebruk" är de endast avsedda för användning inom industriell eller allmän mikrobiologi, bioteknologi eller allmän hygien och får inte användas för bearbetning av humana kliniska prover.

Produkt som visar tecken på mikrobiell kontamination, missfärgning, uttorkning, sprickbildning eller annan försämring får inte användas.

lakta aseptiska metoder vid hantering av prover och produkt före, under och efter användning.

Biologisk och kemisk produktsäkerhet

Detta avsnitt kan även innehålla information om särskilda biologiska och/eller kemiska risker, såsom anges av tillämpliga symboler, tillsammans med tillämpliga R (risk)- och S (säkerhets)-fraser.²

Vad beträffar risker som härrör från de djurmaterial som används, har **BD** som princip att huvudsakligen införskaffa sådana material från Australien, Nya Zeeland och USA. Inget av dessa länder har rapporterat fall av BSE (bovin spongiform encefalopati) bland inhemsk boskap. **BD** införskaffar material av animaliskt ursprung även från andra länder [t.ex. Argentina, Brasilien, Colombia, Mexiko, Sydafrika och Uruguay]. Inget av dessa andra länder har rapporterat fall av BSE bland inhemsk boskap.

Smittrisker med ursprung i prover och mikroorganismer som odlas på mikrobiologiska medier

lakta vedertagna försiktighetsåtgärder mot mikrobiologiska risker. Prover och odlingar av mikroorganismer måste hanteras i enlighet med gällande riktlinjer och lagstiftning avseende biosäkerhet. Enligt det europeiska direktivet 2000/54/EC, innefattar riskgrupp 2 de flesta bakterie- och svamppatogenerna. Riskgrupp 3** har skapats för att innefatta *Salmonella typhi*, enterohemorragisk *Escherichia coli* (EHEC; även kallad STEC = Shiga-toxinproducerande *E. coli*), *Shigella dysenteriae* (typ 1) samt flera andra bakterier och svampar. Tillsammans med flera andra bakterie- och svamppatogener, innefattar riskgrupp 3 också alla *Brucella* spp., *Mycobacterium tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. ulcerans* och *Histoplasma capsulatum*. För ytterligare information hänvisas till Bilaga III i direktiv 2000/54/EC.³ Detta och andra europeiska direktiv kan inhämtas direkt via www.europa.eu/index.htm

Produktbortskaffning

Efter användning och före kassering måste provbehållare och allt kontaminerat material, inklusive använda odlingsmedier och kontaminerade provbehållare, autoklaveras i 20 till 30 minuter vid 121 °C eller högre temperatur (om stora mängder bortskaffat material måste steriliseras), eller brännas med användning av validerade förfaranden.

FÖRVARING OCH HÅLLBARHET

BD:s användningsklara medier på platta måste förvaras vid 2 – 8 °C. Medier i flaskor och på dipslides måste förvaras vid denna eller andra förvaringstemperaturer.

Förutom i **bruksanvisningen** finns förvaringstemperaturerna angivna på produktens förpackningsetikett eller kartong.

Överhettning och nedfrysning skall undvikas.

Nedfrysning kan orsaka total nedbrytning av agargel eller fällning i flytande medier. Temperaturer som under en längre tid överstiger angiven förvaringstemperatur kan orsaka nedbrytning av mediaingredienser. Detta gäller speciellt selekterande agens, såsom antimikrobiella medel. Alltför kraftig fuktighet p.g.a. kondens kan utvecklas efter på varandra följande kraftiga temperaturförändringar (t.ex. från 2 till 25 °C och åter till 2 °C) på helt fasta medier. Medier på platta med för kraftig fuktighet måste torkas före inokulering, t.ex. genom att de placeras med locken på glänt i en ren inkubator vid 30 – 37 °C i högst en timme. Torka inte ut mediet! Exakt exponeringstid beror på luftfuktigheten i inkubatorn.

Förvaringen av öppnad förpackning är också angiven. Angiven förvaring av öppna staplar av odlingsplattor gäller förvaring i kylskåp på ren plats.

Kontamination under förvaring måste undvikas av användaren, t.ex. genom att plattorna förpackas i rena plastpåsar.

För förvaring av medier på flaska från öppnade förpackningar gäller den hållbarhet som anges på förpackningsetiketten och på flaskorna, under förutsättning att de inte har öppnats.

Alla användningsklara eller delvis färdigställda medier måste förvaras mörkt.

Om medier utsätts för artificiellt ljus, solljus eller UV-ljus under en längre tid kan deras prestanda reduceras. Många medier, t.ex. kromogena medier, endoagar m.fl., är speciellt känsliga för stark belysning före och under inkubering.

Alla **BD:s** användningsklara eller delvis färdigställda medier kan användas fram till angivet **utgångsdatum** och inkuberas rekommenderat antal inkuberingsomgångar.

Detta innefattar t.ex. inokulering av ett mykobakteriellt medium på dess utgångsdatum, efterföljt av fyra eller sex veckors inkubering. Undvika uttorkning under inkubering. Utgångsdatum (timglassymbolen) finns angivet på de enskilda behållarna och på förpackningsetiketten. Formatet år-månad-dag används på alla produkter, dvs. 2004-06-09 betyder 9 juni 2004.

KVALITETSKONTROLL UTFÖRD AV ANVÄNDAREN

De kvalitetskontrollförfaranden som anges i **Bruksanvisningen** bör utföras av användaren. De teststammar som där anges motsvarar vanligen, men inte alltid, de stammar som använts vid kvalitetskontrollförfaranden utförda av tillverkaren innan produkten släppts för försäljning, vilka kan innefatta ytterligare teststammar. Oftast används stammar från American Type Culture Collection (= ATCC; www.atcc.org), men stammar från europeiska samlingar, t.ex. Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (= DSM; www.dsmz.de) eller National Collection of Type Cultures (= NCTC; www.hpacultures.org.uk) används också.

Se **Analyscertifikatet** för respektive produktparti vilket anger de teststammar och de resultat som använts vid partiets frisläppning.

Vilka förfaranden som används vid en mikrobiologisk prestandatest kan vara beroende av den typ av medium och metod som används.

Använd alltid färsk suspensioner av teststammar som beretts från odlingar som stått över natten i lämpliga flytande medier (t.ex. Tryptic eller **Trypticase™** sojabuljong för aerobes och Schaedler buljong med hemin och vitamin K för anaerobes). Alternativt kan färsk suspensioner som beretts från odlingar på odlingsmedier på plattor som stått över natten användas. Inkuberingstiderna för förödlings måste förlängas om teststammen växer långsamt.

För **testning av näringskapaciteten hos ett medium på platta** enligt CLSI-standard M22, skall inokulatsuspensionen spädas så att 1 till 2×10^4 cfu per platta erhålls.⁴ Ett tiofaldigt tunnare inokulat bör användas om detta inte ger isolerade kolonier. I enlighet med DIN EN 12322, testas växtfrämjande egenskaper med 100 till 1000 cfu eller tillräcklig cfu som ger isolerade kolonier med en lämplig utstryksmetod för plattor.⁵ Om stammarna inokuleras med en kvantitativ plattmetod är 50 till 500 cfu per platta vanligtvis lämpligt för att erhålla ett antal kolonier som kan räknas. Enligt riktlinjerna för USP och EP, måste 10 till 100 cfu per platta (eller behållare) användas.^{6,7}

För **testning av den hämmande kapaciteten hos ett selektivt medium på platta** i enlighet med CLSI M22, måste 1 till 2×10^5 cfu per platta användas för inokulering och ca 10^4 eller fler cfu i enlighet med DIN EN 12322.^{4,5}

Inokulat med mycket höga koncentrationer av oönskade stammar kan "överbelasta" mediet, med "genombrytande" växt som följd.

Inkludera i jämförande syfte alltid ett växtreferensmedium, vilket bör vara ett icke-selektivt medium som ger optimal växt av alla teststammar. För aeroba stammar är Columbia-agar med 5 % fårblod lämplig för detta ändamål, för svårodlade stammar (som *Neisseria gonorrhoeae*) chokladagar, för anaerobes Schaedler-agar med vitamin K och 5 % fårblod, samt för svampar Sabouraud glukosagar. Vid kvantitativ test bör växt av "önskade" stammar på testmediet utgöra minst 70 % av växten på referensmediet. På selektiva medier måste växt av "oönskade" stammar vara delvis till fullständigt inhiberad. Graden av inhibition beror på mediet och stammarna, men växt reduceras normalt med en faktor 10^3 till 10^4 (eller mer) jämfört med växt på det icke-selektiva växtreferensmediet.

För **testning av växtprestanda hos medier i ampuller eller flaskor** används jämförbara metoder. Mindre rör och ampuller bör inokuleras med 10^5 cfu i enlighet med CLSI M22 standard.⁴ EP-, USP- och DIN EN 12322-förfaranden kräver samma inokulat som de som anges ovan för medier på platta.⁵⁻⁷ Ampuller eller flaskor med fyllningsvolymen på över 10 mL bör först hållas av i aliquoter om 5 eller 10 mL i sterila rör och testas på samma sätt.

Inkubera och inspektera de inokulerade medierna så som beskrivs för respektive produkt.

Fastställ **pH** potentiometriskt vid rumstemperatur (25° C) för att följa de värden som specificerats för produkten. Det pH-område som anges i dokumentet **Bruksanvisning** är det som fastställts efter mediets tillverkning. Det kan variera något under mediets hållbarhetstid och kan vara beroende av det elektrodsystem som används.

Produktens sterilitet kan testas av användaren genom inkubering av flera plattor (eller behållare, exempelvis flaskor) vid lämplig inkuberingstemperatur (t.ex. 28 – 35 °C) i 5 – 7 dagar eller så som är lämpligt för de förfaranden som skall användas.^{6,7}

Flytande medier med naturlig grumlighet bör renodlas på lämpligt fast medium (t.ex. **Trypticase** sojaagarplattor) efter inkuberingen för att fastställa sterilitet. Gramfärgningar och mikroskopering av isolat från medierna kan också vara av värde i fall av tveksamma resultat.

FÖRFARANDE

Under **Tillhandahållet material** anges medierna och typ av behållare. De flesta av **BD**:s användningsklara medier på platta tillhandahålls i **BD Stacker** 90 mm skålar, konstruerade så att de kan kopplas ihop för att minska risken för att staplarna rasar. Vissa av **BD**:s användningsklara medier på platta tillhandahålls i olika typer av kärl, som t.ex. delade skålar, kontaktskålar, 150 mm-skålar eller fyrkantiga skålar, beroende på tillämpningen.

BD:s användningsklara eller delvis färdigställda medier i flaskor eller ampuller finns tillgängliga i många olika storlekar, fyllningsvolymmer och med olika tillslutningar, beroende på användningsområde och tillämpning.

Här anges information om produktens mikrobiologiska tillstånd:

Medier på platta, dipslides samt vissa medier i flaskor eller ampuller är aseptiskt fyllda; de är således "mikrobiologiskt kontrollerade". För dessa medier tillåter DIN EN 12322-standard en kontaminationsgrad av $\leq 5\%$.⁵ Interna frisläppningskriterier är dock striktare.

Medier på flaska som är steriliserade i sina slutliga behållare är märkta med symbolen "steril", tillsammans med symbolen "termometer" (vilket anger "steriliserad i autoklav"). För dessa medier gäller kriterierna för sterila produkter enligt EP.⁶

Under **Material som ej medföljer** anges specialutrustning som är nödvändig för att kunna utföra testen. Vanliga material såsom ympöglor, spridare, pipetter, inkubatorer m.m. anges inte här eftersom de är allmänt nödvändiga i ett mikrobiologiskt laboratorium.

Under **Provtyper** anges de(t) prov(er) som skall användas med det specifika mediet. Vid behov anges speciella krav beträffande provtagning och transport av provet under **Provtagning och transport**.

Prover måste tas och transporteras på korrekt sätt med användning av lämpliga transportmedier för att undvika uttorkning, för hög exponering för syre eller överväxt av symbiotiska organismer. Den tid som åtgår från provtagning till bearbetning av proven i laboratoriet är viktig, och måste hållas så kort som möjligt. Beträffande information om provtagning och transportmetoder för specifika patogener hänvisas till tillämpliga referenser.⁸

Under **Testförfarande** ges allmän och specifik information för inokulering av det specifika mediet och, vid behov, användning av ytterligare medier.

Inokulering av medier

Det ingår i god mikrobiologisk laboratörssed att medier inokuleras för isolering genom strykning av provet, med tre strykningar på varje platta, och med en resteriliserad ögla för varje strykning. Om försteriliserade öglor används måste en ny ögla användas för varje strykning. Vid odling direkt från provtagningspinne rullas istället pinnen över ett litet ytområde nära kanten, varefter plattan stryks för isolering från det inokulerade området med öglor, i två strykningar.

Denna teknik medger isolering av enstaka kolonier från blandkulturer. Renkulturer som erhålls från enstaka kolonier är obligatoriska för identifiering och resistensbestämning av isolaten.

Inkuberingstemperaturen och -tiden anges också här.

Det ingår i god laboratörssed att regelbundet kontrollera den faktiska **temperaturen i inkubatorerna**. Temperaturer under och över angivet område kan medföra förlust av viabiliteten hos organismerna i odlingarna, reducerad växt eller ej reproducerbara resultat.

Vid inkubering av användningsklara medier på platta skall adekvat **luftfuktighet** tillförsäkras, speciellt om de inkuberas under en längre tid. I sådana fall skall inte inkubatorer med luftcirkulation användas eftersom medierna då kan torkas ut kraftigt, speciellt om luftfuktigheten i laboratoriet är låg. Odlingar på platta av mikroorganismer som är adapterade till fuktiga miljöer, t.ex. *Legionella*, måste inkuberas i anfuktade kammare eller burkar. Plattorna kan också förslutas med tejp för att reducera avdunstning. Ett minimalt gasutbyte måste dock fortfarande vara möjligt.

Detta gäller också medier i rör: skruvlocken måste alltid vara något uppskruvade under inkubering.

I avsnittet **Resultat** ges information om hur organismen ser ut på det specifika mediet. För isolerings- och växtmedier för allmänt bruk kan sådan specifik information inte lämnas för alla organismer som kan växa på mediet. Tillämpliga referenser skall konsulteras.⁹ Specifik information ges slutligen i **Beräkning och tolkning av resultat**. Detta avsnitt finns med om en diagnos är beroende av mängden patogener i ett prov. **Detta gäller exempelvis sådana medier som CLED-agar som används för att räkna bakterier i urin.**

KLINISKA PRESTANDA OCH METODENS BEGRÄNSNINGAR

Mediets prestanda beskrivs och, om tillämpligt, de typer av organismer som kan isoleras med mediet anges, tillsammans med beviskällor. För nyligen introducerade medier kan resultat från prestandautvärderingar inkluderas här.

Det måste poängteras att ett enstaka medium sällan är tillräckligt för att detektera alla organismer som kan vara signifikanta i ett prov. Det kan också förekomma enstaka stammar inom en mikrobiell population som inte växer adekvat på ett visst medium trots att mediet är lämpligt för detektion av de flesta andra stammar inom detta species. Av denna anledning gäller för de flesta prover att två eller tre olika medier inokuleras samtidigt, eller att ett icke-selektivt medium kombineras med ett eller två selektiva medier, eller att två selektiva medier med olika grad av selektivitet används.

Specifika kända **begränsningar för tillämpningen** av mediet anges även här. För de flesta medier gäller att ytterligare tester krävs för att erhålla slutlig identifiering av de isolerade organismerna.

REFERENSER

Här anges litteratur som åberopats i dokumentet.

FÖRPACKNINGAR/TILLGÄNGLIGHET

Här anges tillgängliga **katalognummer**, **förpackningsstorlekar** och, i tillämpliga fall, olika format.

YTTERLIGARE INFORMATION

Här ges ytterligare information, inklusive tillverkarens adress (symbol för "fabrik"). Slutligen anges de varumärken som nämnts i de specifika dokumenten.

REFERENSER SOM ÅBEROPATS I DENNA ALLMÄNNA BRUKSANVISNING

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