



ALLGEMEINE GEBRAUCHSANLEITUNG Gebrauchsfertige Nährmedien in Petrischalen

Dieses Dokument enthält Informationen bezüglich der Struktur der **GEBRAUCHS-ANWEISUNGEN** und zusätzliche Einzelheiten zur Anwendung von gebrauchsfertigen Nährmedien von **UCB Pharma**.

Die Textfelder liefern zusätzliche Informationen, welche in den einzelnen Gebrauchsanweisungen nicht enthalten sind.

Die **Kopfzeile** auf Seite 1 aller Dokumente enthält die **CE-Kennzeichnung**, falls es sich bei dem Produkt um ein **IVD** gemäß der Europäischen IVD-Richtlinie handelt.¹ Des Weiteren sind die Dokumenten- und Versionsnummer (z.B. **2475.00**) sowie das Revisionsdatum (Monat und Jahr) vermerkt. Die Dokumenten- und Versionsnummer werden in der **Fußzeile** jeder Seite wiederholt.

Als Nächstes wird der **Produktname** aufgeführt. Manche **Gebrauchsanweisungen** enthalten Beschreibungen mehrerer Medien mit ähnlichen Zusammensetzungen und Anwendungsbereichen.

VERWENDUNGSZWECK

In diesem Abschnitt wird der Anwendungsbereich angegeben. Falls es für andere Anwendungsbereiche eingesetzt wird, muss das Medium oder dieses Verfahren vom Anwender validiert werden.

Der Hersteller übernimmt keine Verantwortung, wenn das Produkt für Anwendungsbereiche, Mikroorganismen und Verfahren angewandt wird, die in der **Gebrauchsanweisung nicht empfohlen werden.**

GRUNDLAGEN UND ERLÄUTERUNG DES VERFAHRENS

Dieser Abschnitt enthält das Verfahrensprinzip („Mikrobiologische Methode“). Weiterhin werden Informationen über die Geschichte und Entwicklung des Mediums aufgeführt und es werden die Verfahrensprinzipien und die Funktion der unter **REAGENZEN** aufgelisteten Bestandteile erklärt.

REAGENZEN

Dieser Abschnitt enthält die Zusammensetzung und den pH-Wert des Produkts.

VORSICHTSMASSNAHMEN

Falls mit **IVD** gekennzeichnet, sind die gebrauchsfertigen Nährmedien von **UCB Pharma** zur Verwendung in der in-vitro Diagnostik gemäß der Europäischen Richtlinie für Medizinprodukte in der In-vitro Diagnostik bestimmt.¹
Diese Produkte sind nur für den Gebrauch durch Fachpersonal bestimmt und dürfen nur von entsprechend ausgebildetem Personal verwendet werden. Sie dürfen nicht von Patienten für Selbsttests angewandt werden.

Produkte bei Anzeichen von mikrobieller Kontamination, Verfärbung, Austrocknung, Rissen oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.

Eine aseptische Arbeitsweise ist beim Umgang mit dem klinischen Material und dem Fertigmedium vor, während und nach der Beimpfung einzuhalten.

Biologische und chemische Sicherheit des Produkts

Dieser Abschnitt kann ebenfalls Informationen über spezifische biologische und/oder chemische Gefahren enthalten, welche zusammen mit den geeigneten R(isiko)- und S(icherheits)-Hinweisen mit den entsprechenden Symbolen angezeigt werden.²

Biogefährdung aus Proben und Mikroorganismen, welche auf mikrobiologischen Medien kultiviert werden

Der Umgang mit mikrobiologischem Material muss unter Einhaltung der allgemein üblichen Vorsichtsmaßnahmen erfolgen. Proben und Kulturen von Mikroorganismen müssen gemäß den lokal geltenden Biogefährdungsrichtlinien und Gesetzen gehandhabt werden. Gemäß der Europäischen Richtlinie 2000/54/EG gehören die meisten bakteriellen und pilzartigen Erreger zur Risikogruppe 2. Die Risikogruppe 3** wurde für *Salmonella* Typhi, enterohämorrhagische *Escherichia coli* (EHEC, auch als STEC = Shiga-Toxin produzierende *E. coli* bezeichnet), *Shigella dysenteriae* (Typ 1) und verschiedene andere Bakterien und Pilze geschaffen. Neben verschiedenen anderen Bakterien und Pilzen gehören alle *Brucella* spp., *Mycobacterium tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. ulcerans* und *Histoplasma capsulatum* zur Risikogruppe 3. Für Einzelheiten ist Anhang III der Richtlinie 2000/54/EG hinzuzuziehen. Diese und andere Europäische Richtlinien können direkt unter www.europa.eu/index.htm eingesehen werden.

Entsorgung des Produkts

Nach der Anwendung und vor der Entsorgung sind Probenbehälter und alle kontaminierten Materialien, einschließlich verwendete Kulturmedien und kontaminierte Kulturgefäße, 20 – 30 min. bei 121 °C oder höher (wenn große Menge von zu entsorgenden Materialien sterilisiert werden müssen) zu autoklavieren oder mit Hilfe von anerkannten Verfahren zu verbrennen.

AUFBEWAHRUNG UND HALTBARKEIT

Nach Erhalt Platten bis unmittelbar vor dem Gebrauch im Dunkeln bei 2 – 8 °C in der Originalverpackung lagern. Einfrieren und Überhitzen vermeiden. Die Platten können bis zum Verfallsdatum (s. Kennzeichnung auf der Verpackung) inokuliert und entsprechend den empfohlenen Inkubationszeiten inkubiert werden.

Platten aus bereits geöffneten Stapeln mit jeweils 10 Platten können bei Lagerung in einem sauberen Bereich bei 2 – 8 °C bis zu einer Woche verwendet werden.

Einfrieren kann zum vollständigen Produktverfall des Agargels oder zu Ausfällungen in Flüssigmedien führen. Eine Überschreitung der angezeigten Lagertemperatur über einen längeren Zeitraum kann zum Verfall der Medienbestandteile führen. Dies gilt vor allem für selektive Agenzien, wie z.B. Antibiotika.

Übermäßige Feuchtigkeit auf Grund von Kondenswasser kann sich nach aufeinanderfolgenden extremen Temperaturänderungen (z.B. von 2 °C auf 25 °C und zurück auf 2 °C) auf allen festen Medien entwickeln.

Übermäßig feuchte Plattenmedien müssen vor der Beimpfung getrocknet werden, z.B. indem sie mit halb geöffnetem Deckel bei 30 – 37 °C, höchstens eine Stunde lang in einen Inkubator gestellt werden. Medien nicht

austrocknen! Die genaue Trocknungszeit hängt von der Luftfeuchtigkeit im Inkubator ab.

Die **Lagerung von geöffneten Packungen** wird ebenfalls angegeben. Die Lagerung von geöffneten Plattenmedien-Packungen bezieht sich auf gekühlte Lagerung in einem sauberen Bereich.

Eine Kontamination während der Lagerung muss durch den Anwender verhindert werden, z.B. durch Einpacken der Platten in saubere Plastikbeutel.

Alle gebrauchsfertigen Medien müssen im Dunkeln aufbewahrt werden.

Direkte Einwirkung von Kunstlicht, Sonnenlicht oder UV-Licht über einen längeren Zeitraum kann zu einer reduzierten Leistung aller Medien führen. Verschiedene Medien, wie z.B. farbstoffhaltige Medien, sind bevor und während der Inkubation besonders empfindlich gegenüber starker Beleuchtung.

Alle gebrauchsfertigen Medien von **UCB Pharma** können noch am Tage des aufgedruckten Verfallsdatums beimpft und für die empfohlene Bebrütungszeit darüber hinaus inkubiert werden.

QUALITÄTSSICHERUNG DURCH DEN ANWENDER

Die in der **Gebrauchsanweisung** angegebenen Qualitätssicherungsverfahren sollen vom Anwender durchgeführt werden. Die hier erwähnten Teststämme entsprechen üblicherweise, jedoch nicht immer, den in den Qualitätssicherungsverfahren für den Freigabetest des Herstellers verwendeten Stämmen, die weitere Stämme mit besonderen Eigenschaften enthalten können. Am häufigsten werden Stämme von der American Type Culture Collection (= ATCC, www.atcc.org) verwendet, aber auch Stämme aus europäischen Sammlungen, z.B. der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (= DSM; www.dsmz.de) oder anderer anerkannter Stammsammlungen kommen zur Anwendung.

Die Verfahren zur Durchführung einer mikrobiologischen Leistungsprüfung können von der Art des Mediums und der angewandten Methode abhängen.

Immer frische Teststamm-Suspensionen verwenden, welche aus über Nacht bebrüteten Kulturen in einem geeigneten Flüssigmedium (z.B. Casein-Soja-Bouillon für aerobe Organismen) zubereitet wurden. Als Alternative können auch frische, aus über Nacht bebrüteten Kulturen auf Plattenmedien zubereitete Suspensionen verwendet werden. Die Inkubationszeiten von Vorkulturen müssen verlängert werden, wenn der Teststamm langsam wächst.

Zum **Testen der Nährkapazität eines Plattenmediums** gemäß CLSI-Standard M22, Inokulumsuspension verdünnen, um 1 bis 2×10^4 koloniebildende Einheiten (=KBE) pro Platte zu erhalten.⁴ Ein zehnfach schwächeres Inokulum sollte verwendet werden, wenn dies keine isolierten Kolonien liefert.

Gemäß DIN EN 12322 werden die wachstumsfördernden Eigenschaften mit 100 bis 1000 KBE oder einer ausreichenden Menge von KBE getestet, um mit Hilfe eines geeigneten Platten-Ausstreichverfahrens isolierte Kolonien zu erhalten.⁵ Wenn die Stämme mit einem quantitativen Verfahren auf die Platten inokuliert werden, sind 50 bis 500 KBE pro Platte üblicherweise ausreichend, um eine zählbare Menge Kolonien zu erhalten. Nach den

Richtlinien der USP und EP müssen <100 KBE pro Platte (oder Behälter) verwendet werden.^{6,7}

Um die **Hemmkapazität von selektiven Plattenmedien zu testen**, müssen gemäß NCCLS M22-A2 1 bis 2×10^5 KBE pro Platte zur Inokulierung verwendet werden, während nach DIN EN 12322 etwa 10^4 oder mehr KBE vorgeschrieben werden.^{4,5} Sehr hohe Inokulumkonzentrationen von unerwünschten Stämmen können das Medium "überlasten" und zu einem „Durchbruch“ des Wachstums führen.

Zum Vergleich ist immer ein Wachstumsreferenz-Medium mit einzubeziehen. Dabei sollte es sich um ein nicht selektives Medium handeln, welches optimales Wachstum aller Teststämme liefert. Zu diesem Zweck eignen sich für die meisten aeroben Stämme Columbia-Agar mit 5 % Schafblut, und für Pilze Sabouraud-Glucose-Agar. Bei der quantitativen Bestimmung sollte das Wachstum der „erwünschten“ Stämme auf dem Testmedium mindestens 70% des Wachstums auf dem Referenzmedium betragen. Aus selektiven Medien muss das Wachstum von „unerwünschten“ Stämmen teilweise bis vollständig gehemmt werden. Der Grad der Hemmung hängt vom Medium und den Stämmen ab, wobei sich das Wachstum jedoch im Vergleich zum Wachstum auf dem nicht selektiven Referenzmedium üblicherweise um den Faktor 10^3 bis 10^4 (oder mehr) verringert.

Inokulierte Medien gemäß Beschreibung für das jeweilige Produkt inkubieren und überprüfen.

Den **pH-Wert** mit dem Potentiometer bei 25° C auf die Einhaltung der für das Produkt definierten Werte überprüfen. Der in der **Gebrauchsanweisung** erwähnte pH-Bereich entspricht dem nach Herstellung des Mediums bestimmten Wert. Er kann im Verlauf der Haltbarkeitsdauer leicht variieren und vom verwendeten Elektrodensystem abhängen.

Die **Sterilität des Produkts** kann durch den Anwender überprüft werden, indem verschiedene Platten (oder Behälter, z.B. Flaschen) 5 – 7 Tage bei einer geeigneten Temperatur inkubiert werden (z.B. 28 – 35 °C).^{6,7}

VERFAHREN

Unter **Mitgeliefertes Arbeitsmaterial** werden die Medien und die Behälterarten beschrieben. Die meisten gebrauchsfertigen Plattenmedien sind in 90 mm-Petrischalen erhältlich, deren ineinander greifende Form das Risiko des Verrutschens der Stapel verringert. Bestimmte gebrauchsfertige Plattenmedien sind in geteilten Petrischalen (=Doppelplatten, Biplates) erhältlich. Dieser Abschnitt enthält Informationen über den mikrobiologischen Zustand des Produkts:

Plattenmedien werden aseptisch gefüllt; sie sind „mikrobiologisch überprüft“. Für diese Medien ist gemäß DIN EN-12322 eine Kontaminationsrate von $\leq 5\%$ erlaubt.⁵ Die internen Freigabekriterien des Herstellers sind jedoch strenger.

Unter **Nicht Mitgeliefertes Arbeitsmaterial** werden spezielle, zur Ausführung des Tests notwendige Geräte aufgelistet. Herkömmliche Materialien, wie z.B. Impfüsen, Spatel, Pipetten, Inkubatoren, etc. werden hier nicht aufgeführt, da sie in mikrobiologischen Labors generell verwendet werden.

Im Abschnitt **Probenarten** werden die mit dem spezifischen Medium zu verwendenden Proben beschrieben. Wenn nötig, werden die besonderen Anforderungen für die Entnahme und den Transport der Proben unter **Entnahme und Transport** beschrieben.

Die Proben sind auf angemessene Weise zu entnehmen und evt. unter Verwendung von geeigneten Transportmedien zu transportieren, um ein Austrocknen, übermäßige Exposition gegenüber Sauerstoff und Überwachsen durch kommensale Organismen zu vermeiden. Die Zeit zwischen Probenentnahme und Verarbeitung der Probe im Labor muss so kurz wie möglich sein. Für Einzelheiten bezüglich der Probenentnahme- und Transportverfahren für spezifische Erreger sind die entsprechenden Literaturhinweise zu beachten.⁸

Der Abschnitt **Testverfahren** enthält allgemeine und spezifische Informationen bezüglich der Inokulierung des jeweiligen Mediums, sowie, falls notwendig, bezüglich der Anwendung von zusätzlichen Medien.

Inokulation der Medien

Es gehört zur guten Laborpraxis, dass die Medien durch Ausstreichen der Probe zur Isolierung in drei Ausstreichschritten auf jede Platte inokuliert werden, wobei die zu verwendende Impföse vor jedem Ausstreichschritt sterilisiert wird. Wenn vorsterilisierte Impfösen verwendet werden, sollte für jeden Ausstreichschritt eine separate Öse benutzt werden. Falls das Material direkt von einem Tupfer kultiviert wird, Tupfer über einen kleinen Bereich am Rand der Oberfläche rollen; anschließend mit Ösen zur Isolierung mit zwei Ausstreichschritten aus dieser inokulierten Fläche ausstreichen. Dieses Verfahren ermöglicht die Isolierung von einzelnen Kolonien aus Mischkulturen. Aus einzelnen Kolonien erhaltene Reinkulturen sind zur Identifizierung und Empfindlichkeitsprüfung der Isolate zwingend notwendig.

Die Inkubationstemperatur und –zeit werden ebenfalls hier aufgeführt.

Es gehört zur guten Laborpraxis, die tatsächliche **Temperatur des Inkubators** regelmäßig zu überprüfen. Temperaturen über und unter dem angegebenen Bereich können zu einem Verlust der Lebensfähigkeit der Organismen in den Kulturen, verringertem Wachstum oder nicht reproduzierbaren Ergebnissen führen.

Während der Inkubation von gebrauchsfertigen Plattenmedien muss für ausreichend **Feuchtigkeit** gesorgt werden, insbesondere wenn sie über einen längeren Zeitraum inkubiert werden. In solchen Fällen sollten keine Inkubatoren mit Luftzirkulation verwendet werden, da die Medien sonst erheblich austrocknen können, insbesondere wenn die Luftfeuchtigkeit im Labor niedrig ist. Plattenkulturen von Pilzen, die länger als 48 h bebrütet werden sollten mit Klebeband seitlich verschlossen werden, um ein Verdunsten zu verhindern. Ein minimaler Gasaustausch muss jedoch noch möglich sein.

Der Abschnitt **Ergebnisse** enthält Informationen zum Erscheinungsbild der Organismen auf dem jeweiligen Medium. Bei Universal-Isolierungs- und Wachstumsmedien können diese spezifischen Informationen nicht für alle Organismen, die auf dem Medium wachsen können, aufgeführt werden. Die entsprechenden Literaturhinweise sind zu beachten.⁹

Der Abschnitt **Berechnung und Interpretation der Resultate** enthält schließlich spezifische Informationen. Er ist vorhanden, wenn eine Diagnose von der Menge der Erreger in einer Probe abhängig ist. Dies gilt beispielsweise für Medien wie CLED-Agar, welcher zur quantitativen Bestimmung von Bakterien im Urin verwendet wird.

LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Die Leistung des Mediums wird beschrieben sowie, falls zutreffend, die Arten von Organismen, welche mit diesem Medium isoliert werden können, zusammen mit Beweisquellen.

Es muss betont werden, dass ein einzelnes Medium nur selten zum Nachweis aller potenziell signifikanten Organismen in einer Probe ausreicht. Außerdem können innerhalb einer mikrobiellen Population einzelne Stämme existieren, welche auf einem bestimmten Medium nicht richtig wachsen, obwohl das Medium für den Nachweis der meisten anderen Stämme dieser Spezies geeignet ist. Aus diesem Grund sollten zwei oder drei Medien gleichzeitig inokuliert werden, oder es wird ein nicht selektives Medium mit einem oder zwei selektiven Medien kombiniert.

Ebenfalls werden hier spezifische bekannte **Verfahrensbeschränkungen** dieses Mediums erwähnt.

Für die meisten Medien sind zur endgültigen Identifizierung der isolierten Organismen weitere Tests notwendig.

LITERATUR

Hier werden die im Dokument erwähnten Literaturhinweise aufgelistet.

VERPACKUNG/LIEFERBARE PRODUKTE

Dieser Abschnitt enthält **Katalognummern** und **Verpackungsgrößen**.

LITERATURHINWEISE IN DIESER ALLGEMEINEN GEBRAUCHSANLEITUNG

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 (vormals National Committee for Clinical Laboratory Standards). 2004. M22-A3. Quality assurance for commercially prepared microbiological culture media – third edition; approved standard. CLSI, Wayne, PA, USA.
5. DIN EN 12322. 1999. Culture media for microbiology – performance criteria for culture media. Beuth Verlag Berlin.
6. Council of Europe. 2002. European Pharmacopoeia, 4th edition, and Supplement 4.2. 2002. European Pharmacopoeia Secretariat. Strasbourg/France.
7. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc. 1999. The U.S. Pharmacopeia 24/The national formulary 19--2000. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville, Md.
8. Thomson, R.B., and J.M. Miller. 2003. Specimen collection, transport, and processing: bacteriology. *In*: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenenbaum (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenenbaum (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.



UCB Pharma GmbH
Alfred-Nobel-Str. 10
40789 Monheim (Germany)
Tel: +49 2173 48 1389
Fax: +49 2173 48 1521

ATCC ist ein Warenzeichen der American Type Culture Collection
© 2010 UCB Pharma GmbH