



ANVÄNDNINGSSINSTRUKTIONER

BLOOD AGAR BASE

Dehydrerat odlingsmedium



Grupp A β -hemolytiska streptokocker på blodagarbas kompletterad med fårblod.

1 – AVSEDD ANVÄNDNING

In vitro-diagnostik. Icke-selektivt, allmänt användbart medium som ska användas utan tillsatser eller med tillsatser av defibrinerat animaliskt blod, för isolering och odling av krävande och icke-krävande mikroorganismer från kliniska prover och andra material samt för bestämning av deras hemolytiska egenskaper.

2 – TYPISK SAMMANSÄTTNING ***(EFTER REKONSTITUERING MED 1 LITER VATTEN)**

Nötköttextrakt	10 g
Tryptos	10 g
Natriumklorid	5 g
Agar	15 g

* Formeln kan justeras och/eller kompletteras för att uppfylla de prestandakriterier som krävs.

3 – METODENS PRINCIP OCH FÖRKLARING AV FÖRFARANDET

Blodagarbas är ett allmänt medium som kan användas utan tillsatser eller med tillsats av olika berikningsämnen såsom blod, serum och kolhydrater.

Nötköttextrakt och tryptos är en källa till kol, kväve och spårämnen som är nödvändiga för mikrobiell tillväxt; natriumklorid bidrar till mediets osmotiska balans.

Utan tillsatser kan mediet användas som ett näringsrikt agar eller som ett medium för kortvarig upprätthållande av mikrobiella kulturer.

Med tillsats av serum eller andra berikningsmedel blir blodagarbasen lämplig för odling av krävande mikroorganismer såsom streptokocker, pneumokocker, meningokocker och *Haemophilus*.

Med tillsats av sterilt defibrinerat får- eller hästblod är mediet avsett för isolering och odling av krävande och icke-krävande mikroorganismer från kliniska prover och andra material samt för bestämning av hemolytiska egenskaper hos streptokocker, stafylokocker och andra mikroorganismer. Med tillsats av fårblod är mediet särskilt lämpligt för isolering av *Streptococcus pyogenes*.

4 – ANVISNINGAR FÖR BEREDNING AV MEDIUM

Lös upp 40 g i 1 000 ml kallt renat vatten. Värm upp till kokning med frekvent omrörning, sterilisera genom autoklavering vid 121 °C i 15 minuter. Kyl till 47–50 °C och tillsätt aseptiskt 5–7 % sterilt defibrinerat får- eller hästblod. Blanda väl och håll i sterila petriskålar.

5 – FYSISKA EGENSKAPER

Dehydratiserat medium utseende

ljusgult, fint, homogent, fritt flytande pulver

Lösningens utseende

ljusgul, klar

Utseende på blodagarplattor

mörkröd, ogenomskinlig

Slutligt pH vid 20–25 °C

7,4 $\pm$ 0,2**6 – MEDFÖLJANDE MATERIAL – FÖRPACKNING**

Produkt	Typ	REF	Förpackning
Blodagarbas	Dehydrerat medium	4011552	500 g (12,5 L)
		4011554	5 kg (125 L)

7 – MATERIAL SOM KRÄVS MEN INTE TILLHANDAHÅLLS

Djurblod, autoklav, vattenbad, inkubator och laboratorieutrustning efter behov, sterila öglor och bomullspinnar, petriskålar, Erlenmeyerkolvar, generatorer och burkar för kontrollerad atmosfär, kompletterande odlingsmedier och reagenser för identifiering av kolonierna.

8 – PROVER

Blodagarbas kompletterad med fårblod och håll i plattor kan direkt inokuleras med många kliniska prover som samlats in från olika normalt sterila och icke-sterila platser på människor. Se den citerade litteraturen för provtyper relaterade till specifika infektioner. ^{1–3}Blodagarplattor är inte lämpliga för direkt inokulation av blodprover. Samla in prover före antimikrobiell behandling om möjligt.

God laboratiesed för insamling, transport och förvaring av kliniska prover bör tillämpas. Se lämpliga referenser för ytterligare information.¹

9 – TESTFÖRFARANDE

Låt plattorna anta rumstemperatur och låt ytan på mediet torka. Inokulera och stryk ut provet med en ögla över de fyra kvadranterna på plattan för att få väl isolerade kolonier, och se till att sektionerna 1 och 4 inte överlappar varandra. Alternativt, om materialet odlas direkt från en bomullspinne, rulla bomullspinnen över ett litet område på ytan vid kanten; stryk sedan från detta inokulerade område.

Inkubera vid 35–37 °C i aeroba förhållanden med eller utan 5–10 % CO₂, och registrera resultaten efter 18–24, 48 och vid behov 72 timmar.





Användaren ansvarar för att välja lämplig inkubationstid, temperatur och atmosfär beroende på det bearbetade provet, kraven för de organismer som ska återvinnas och lokalt tillämpliga protokoll.

10 – AVLÄSNING OCH TOLKNING

Efter inkubation observeras bakterietillväxten och de specifika morfologiska, kromatiska och hemolytiska egenskaperna hos kolonierna registreras.

Genom odling på fårbloodagarplattor beredda med bloodagarbas kan bakterier differentieras utifrån deras förmåga att utsöndra hemolysiner. Hemolysen orsakar en klar zon i bloodagarn runt kolonierna. Bakterier kan orsaka olika typer av hemolys:

1. α -hemolys: partiell hemolys av de röda blodkropparna som ger en gröngrå eller brunaktig missfärgning runt kolonierna.
2. β -hemolys: fullständig hemolys av röda blodkroppar som resulterar i en klar zon runt kolonierna.
3. γ eller icke-hemolys: ingen hemolys av röda blodkroppar, ingen förändring av mediet under och runt kolonierna.
4. α -prime hemolysis: en liten zon med fullständig hemolys som omges av ett område med partiell lys med grön missfärgning; denna typ av hemolys är ovanlig.

Nedan sammanfattas koloniernas egenskaper hos vissa mikroorganismer som kan isoleras på bloodagarplattor med fårblood.⁴

- Kolonierna av grupp A-streptokocker är omgivna av en väl avgränsad zon med fullständig hemolys, vanligtvis två eller tre gånger kolonins diameter.
- Kolonierna av grupp B-streptokocker är omgivna av en mycket mindre zon med fullständig hemolys och vissa stammar lyserar inte blodet alls.
- Utseendet på ytliga eller underliggande β -hemolytiska kolonier av streptokocker i grupp C och grupp G skiljer sig inte tillräckligt från kolonierna i grupp A för att vara av någon betydelse för identifieringen.
- Streptokockkolonier av grupp D är icke-hemolytiska.
- Pneumokockkolonier, när odlingen har inkuberats i CO₂-inkubatorer, omges av en ganska stor zon med α -hemolys.
- Viridans streptokockkolonierna kan vara omgivna av en liten zon med α -hemolys eller sakna hemolyszon; sällan uppvisar de α -prime-hemolys.
- Stafylokockkolonier är gula eller vita med eller utan β -hemolyszon.
- *Listeria monocytogenes*-kolonier är omgivna av en liten β -hemolytisk zon.

När kolonierna har vuxit på bloodagarplattor måste användaren skilja mellan potentiella patogener som kräver identifiering och antimikrobiell testning och kontaminanter som representerar medlemmar av normal mikrobiota.

11 – ANVÄNDARENS KVALITETSKONTROLL

Alla tillverkade partier av produkterna släpps för försäljning efter att kvalitetskontrollen har utförts för att kontrollera att specifikationerna uppfylls. Slut användaren kan dock utföra sin egen kvalitetskontroll i enlighet med lokala tillämpliga bestämmelser, i enlighet med ackrediteringskrav och laboratoriets erfarenhet. Här nedan listas några teststammar som är användbara för kvalitetskontrollen.

KONTROLLSTAMMAR	INKUBATIONSTEMPERATUR/T/ATM	FÖRVÄNTADE RESULTAT
<i>S.pyogenes</i> ATCC 19615	35–37 °C / 18–24 timmar / A eller CO ₂	god tillväxt, betahemolys
<i>S.pneumoniae</i> ATCC 6305	35–37 °C / 18–24 timmar / A eller CO ₂	god tillväxt, alfa-hemolys
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	35–37 °C / 18–24 timmar / A eller CO ₂	god tillväxt
<i>E.coli</i> ATCC 25922	35–37 °C / 18–24 timmar / A eller CO ₂	god tillväxt

A: aerob inkubation; ATCC är ett varumärke som står för American Type Culture Collection

12 – PRESTANDAEGENSKAPER

Innan produkten släpps ut på marknaden testas ett representativt prov från alla partier av dehydrerad bloodagarbas, kompletterad med defibrinerat fårblood och utan tillsatser, med avseende på produktivitet och hemolytiskt mönster genom att jämföra resultaten med ett tidigare godkänt referensparti.

Produktiviteten på blodfårssupplementerat medium testas med semikvantitativ ekometrisk teknik med följande stammar: *S.pyogenes* ATCC 19615, *S.pneumoniae* ATCC 6305, *S.agalactiae* ATCC 12386, *S.aureus* ATCC 25923. Efter inkubation vid 35–37 °C i 18–24 timmar utvärderas och registreras typen av hemolys och tillväxtmängden. Alla stammar uppvisar en god tillväxt som är jämförbar med referensbatchen, med ett typiskt hemolytiskt mönster.

Produktiviteten på icke-supplementerat medium testas med semikvantitativ ekometrisk teknik med följande stammar: *E.faecalis* ATCC 19433, *E.coli* ATCC 25922, *S.epidermidis* ATCC 12228 and *C.albicans* ATCC 18804. Efter inkubation vid 35–37 °C i 18–24 timmar utvärderas och registreras tillväxtmängden. Alla stammar uppvisar god tillväxt, jämförbar med referensbatchen.

13 – METODENS BEGRÄNSNINGAR

- Beroende på vilka prover som analyseras och vilka mikroorganismer som testas rekommenderas det att man vid undersökning av kliniska prover även använder ytterligare medier, såsom selektiva medier och chokladagar.
- Tillväxten och typen av hemolys beror på organismens metaboliska behov; det är möjligt att vissa stammar inte växer och/eller uppvisar andra hemolytiska mönster än förväntat.
- *Haemophilus influenzae*, som kräver både faktor X och faktor V, växer inte på detta medium som kompletterats med fårblood⁵, *Neisseria*, *Mycobacterium*, *Bordetella* och andra mikroorganismer med mycket specifika näringsbehov växer inte tillräckligt; för påvisande av dessa organismer bör specifika odlingsmedier användas.
- De hemolytiska reaktionerna hos vissa stammar av streptokocker i grupp D påverkas av vilken typ av blod som används: de är beta-hemolytiska med häst-, mänskligt och kaninblod och alfa-hemolytiska med fårblood.
- Inkubationsatmosfären påverkar de beta-hemolytiska streptokockernas hemolytiska reaktioner: för optimal prestanda ska plattorna inkuberas under aeroba förhållanden med 5–10 % CO₂ eller under anaeroba förhållanden.
- Även om de mikrobiella kolonierna på plattorna kan särskiljas på grundval av sina morfologiska, kromatiska och hemolytiska egenskaper, rekommenderas att biokemiska, immunologiska, molekylära eller masspektrometriska tester utförs på isolat från renkultur för fullständig identifiering. Om det är relevant, utför test av antimikrobiell känslighet.
- Detta odlingsmedium är avsett som ett hjälpmedel vid diagnos av infektionssjukdomar. Tolkningen av resultaten måste göras med hänsyn till patientens kliniska historia, provets ursprung och resultaten från andra diagnostiska tester.



**14 – FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER OCH VARNINGAR**

- Det här är en produkt för kvalitativ *in vitro*-diagnostik, endast avsedd för professionellt bruk. Den ska användas av adekvat utbildad och kvalificerad laboratoriepersonal som iakttar godkända försiktighetsåtgärder mot biologiska risker och aseptiska tekniker.
- Uttorkade medier måste hanteras med lämpligt skydd. Konsultera säkerhetsdatabladet före användning.
- Tillämpa god tillverkningsöversikt i produktionsprocessen för beredda medier.
- Detta odlingsmedium innehåller råmaterial av animaliskt ursprung. Kontrollera av djuren *före* och *efter slakt* samt under produktions- och distributionscykeln för råvarorna kan inte helt garantera att denna produkt inte innehåller några överförbara patogener. Det rekommenderas därför att kulturmediet behandlas som potentiellt smittsamt och hanteras med iakttagande av de vanliga särskilda försiktighetsåtgärderna: förtär inte, andas inte in och undvik kontakt med hud, ögon eller slemhinnor. Ladda ner TSE Statement från webbplatsen www.biolifeitaliana.it, som beskriver de åtgärder som Biolife Italiana har vidtagit för att minska riskerna i samband med smittsamma djursjukdomar.
- Alla laboratorieprover ska betraktas som smittsamma.
- Laboratorieområdet måste kontrolleras för att undvika föroreningar som odlingsmedium eller mikrobiella agens.
- Sterilisera allt biologiskt riskavfall innan det kasseras. Kassera det oanvända mediet och de steriliserade plattorna som inokulerats med prover eller mikrobiella stammar i enlighet med gällande lokal lagstiftning.
- Använd inte odlingsmediet som aktiv ingrediens i farmaceutiska preparat eller som produktionsmaterial avsett för konsumtion av människor och djur.
- Analyscertifikaten och säkerhetsdatabladet för produkten finns tillgängliga på webbplatsen www.biolifeitaliana.it.
- Meddela Biolife Italiana Srl (complaint@biolifeitaliana.it) och berörda myndigheter om allvarliga incidenter som inträffar i samband med användningen av *in vitro*-diagnostiken.
- Informationen i detta dokument har definierats efter bästa kunskap och förmåga och utgör en riktlinje för korrekt användning av produkten men utan förpliktelse eller ansvar. I alla fall måste gällande lokala lagar, förordningar och standardförfaranden följas vid undersökning av prover som tagits från mänskliga och djuriska organ, miljöprover och produkter avsedda för konsumtion av människor eller djur. Vår information befriar inte våra kunder från deras ansvar att kontrollera att våra produkter är lämpliga för det avsedda ändamålet.

15 – FÖRVARINGSFÖRHÅLLANDEN OCH HÅLLBARHET

Förvaras vid +10 °C / +30 °C på en torr plats, skyddad från direkt ljus. Vid korrekt förvaring kan produkten användas fram till utgångsdatum. Använd inte produkten efter detta datum. Undvik att öppna flaskan på fuktiga platser. Efter användning måste behållaren stängas ordentligt. Kassera produkten om behållaren och/eller locket är skadade, eller om behållaren inte är väl tillsluten, eller vid uppenbar försämring av pulvret (färgförändringar, hårdning, stora klumpar). Användaren ansvarar för tillverknings- och kvalitetskontrollprocesserna för beredda medier och för valideringen av hållbarhetstiden för de färdiga produkterna, beroende på typ (plattor/rör/flaskor) och förvaringsmetod (temperatur och förpackning).

16 – REFERENSER

1. Baron EJ, Specimen Collection, Transport and Processing: Bacteriology. In Jorgensen JH, Carroll KC, Funke G et al. editors. Manual of clinical microbiology, 11th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2015. p.270.
2. Vandepitte J, Verhaegen J, Engbaek K, Rohner P, Piot P, Heuck CC. Basic laboratory procedures in clinical bacteriology. 2nd ed. 2003; Geneva: World Health Organization.
3. Public Health England- UK Standards for microbiology investigations (UK SMI): searchable index. 9 January 2019
4. Balows, A., Hausler, W.J., Hermann, K.L., Isenberg H.D. and Shadomy, H.J. (ed) (1991) In Manual of Clinical Microbiology, 5th edition, Washington, DC: American Society for Microbiology; 1991.
5. Nye KJ, Fallon D, Gee B, Messer S, Warren RE, Andrews N. A comparison of blood Agar supplemented with NAD with plain blood agar and chocolate blood agar in the isolation of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus Influenzae* from sputum. Bacterial Methods Evaluation Group J Med Microbiol 48 (12), 1111-1114 Dec 1999

TABELL ÖVER TILLÄMPLIGA SYMBOLER

REF eller REF Katalognummer	LOT Batch-kod	IVD Medicinteknisk produkt för <i>in vitro</i> -diagnostik	 Tillverkare	 Använd senast
 Temperaturbegränsning	 Innehållet räcker till <n> tester	 Se bruksanvisningen	 Förvara skyddat från direkt ljus	 Förvaras torrt

REVIDERINGSHISTORIK

Version	Beskrivning av ändringarna	Datum
Revidering 1	Uppdaterad layout och innehåll	2020/06
Revidering 2	Uppdatering av "försiktighetsåtgärder och varningar" och "förvaringsförhållanden och hållbarhet"	2022/03
Revidering 3	Borttagning av föråldrad klassificering	2023/04

Anmärkning: mindre typografiska, grammatiska och formateringsändringar inkluderas inte i granskningshistoriken.

