

## BRUKSANVISNINGAR

**BCSA SELECTIVE SUPPLEMENT**

## Frystorkat selektivt tillskott

**1 - AVSEDD ANVÄNDNING**

In vitro-diagnostik. Blandning av antimikrobiella medel som ska tillsättas BCSA Burkholderia Cepacia Selective Agar Base för bestämning av frånvaro av *Burkholderia cepacia* complex (Bcc) i icke-sterila farmaceutiska produkter enligt USP-metoden och för isolering av Bcc i kliniska prover huvudsakligen från andningsvägarna.

**2 - SAMMANSÄTTNING - INNEHÅLL I AMPULL FÖR 500 ML MEDIUM**

Vankomycin	1.25 mg
Gentamicin	5 mg
Polymyxin B	300 000 UI

**3 - METODPRINCIP OCH FÖRKLARING AV FÖRFARANDET**

BCSA Selective Supplement är en frystorkad blandning av antimikrobiella ämnen som ska användas som komplement till BCSA Burkholderia Cepacia Selective Agar Base för bestämning av frånvaro av *Burkholderia cepacia* complex (Bcc) i icke-sterila farmaceutiska produkter enligt USP-metoden<sup>1</sup> och för isolering av Bcc i kliniska prover, huvudsakligen från andningsvägarna hos patienter med cystisk fibros och andra sjukdomar i andningsvägarna.<sup>2,3</sup>  
Det kompletta mediet BCSA Burkholderia Cepacia Selective Agar bereds enligt den formel som beskrivs av Henry i 1997<sup>4</sup> och som anges i USP <60>.<sup>1</sup>

Vancomycin, gentamicin och polymyxin B ingår för att hämma andra organismer än Bcc.

**4- ANVISNINGAR**

Rekonstituera innehållet i en ampull aseptiskt med 5 ml sterilt renat vatten och blanda försiktigt för att lösa upp. Bered 500 mL BCSA Burkholderia Cepacia Selective Agar Base (REF 401153), autoklaverad och kyld till 47-50 °C samt tillsätt innehållet i en ampull BCSA Selective Supplement under aseptiska förhållanden. Blanda väl och fördela i sterila petriskålar.

**5 - FYSISKA EGENSKAPER**

Lyofiliserad pellet utseende	kort, tät, vit pastill
Lösningens utseende	klar, färglös

**6 - TILLHANDAHÅLLET MATERIAL - FÖRPACKNING**

Produkt	Typ	REF	Förpackning
BCSA selektivt Selective Supplement	Lyofiliserat supplement	4240073	10 ampuller, vardera för 500 mL medium

**7 - MATERIAL KRÄVS MEN TILLHANDAHÅLLS INTE**

BCSA Burkholderia Cepacia Selective Agar Base (REF 401153), autoklav, vattenbad, inkubator och laboratorieutrustning efter behov, sterila platinöser och svabbar, petriskålar, Erlenmeyerkolvar, kompletterande odlingsmedier och reagenser för identifiering av kolonierna.

**8-PROVER**

**Farmaceutiska prover:** icke-sterila produkter för inhalation eller vattenhaltiga beredningar för oral, munhåle, kutan eller nasal användning; följ det förfarande som beskrivs av USP för provberedning.<sup>1</sup>

**Kliniska prover:** BCSA-agar används för att påvisa *Burkholderia cepacia*-komplex från upphostad saliv, djupa svalgpinnar och aspirat, bronkoalveolära sköljningar. Proverna skall skickas direkt till laboratoriet utan dröjsmål. Om behandlingen måste fördröjas skall proverna förvaras i kylskåp i högst 2 timmar.<sup>2,4,5</sup>

God laboratorised bör tillämpas vid insamling, lagring och transport till laboratoriet.

**9-TESTFÖRFARANDE****Farmaceutiska prover**

Innan testet för bestämning av frånvaro av *Burkholderia cepacia*-komplex (Bcc) utförs måste metodens förmåga att detektera Bcc i närvaro av den produkt som ska testas fastställas (testmetodens lämplighet). Detaljerna i förfarandet beskrivs i USP <60>.<sup>1</sup>  
Bered en spädning 1:10 av den produkt som skall undersökas med minst 1 g av produkten. Använd 10 mL eller den mängd som motsvarar 1 g eller 1 mL för att ympa en lämplig mängd (bestämd enligt beskrivningen i Testmetodens lämplighet) Tryptisk sojabuljong eller en lämplig utspädning av Tryptisk sojabuljong som bestäms under metodlämpligheten (till exempel kan en utspädning på 1:10 krävas vid frivillig testning av farmaceutiska vatten). Blanda och inkubera vid 30-35 °C i 48-72 timmar.  
Subkultur genom strykning på en platta med BCSA och inkubering vid 30-35°C i 48-72 timmar.

**Kliniska prover**

Inokulera 100 µL av det flytande salivet eller bronkoalveolära sköljningen på en BCSA-platta och sprid ut inokulum över hela agarplattans yta. Om materialet odlas direkt från en svab kan man alternativt rulla svabben över ett litet område av ytan vid kanten och sedan stryka från detta inokulerade område.

Inkubera vid 35-37°C i 48-72 timmar.

AMCLI-SIFC<sup>2</sup> rekommendation: inkubering vid 37°C i 3 dagar följt av inkubering vid rumstemperatur i en vecka och kvantitativ upptäckt av CFU. UK SMI B 57<sup>3</sup> rekommendation: inkubering vid 35-37°C i 5 dagar med daglig avläsning av kulturer.





### 10-AVÄSNING OCH TOLKNING

Möjlig förekomst av Bcc indikeras genom tillväxt av grönbruna kolonier med gula halos, eller vita kolonier omgivna av en rosaröd zon på BCSA. All tillväxt på BCSA, typisk eller atypisk, bör bekräftas genom identifieringstest med biokemiska, immunologiska, molekylära och masspektrometriska tekniker efter rening av kolonierna på ett lämpligt medium.

### 11-KVALITETSKONTROLL AV ANVÄNDARE

Alla tillverkade partier av produkten släpps för försäljning efter att kvalitetskontrollen har utförts för att kontrollera överensstämmelsen med specifikationerna. Slut användaren kan dock utföra sin egen kvalitetskontroll i enlighet med lokala föreskrifter, ackrediteringskrav och laboratoriets erfarenhet. Här nedan listas några teststammar som är användbara för kvalitetskontrollen.<sup>1</sup>

KONTROLLSTAMMAR		INKUBATION T° / t / ATME	FÖRVÄNTADE RESULTAT
<i>B.cepacia</i>	ATCC 25416	35°C / 48 h / A	god tillväxt
<i>B.cenocepacia</i> ATCC BAA-485 eller <i>B.multivorans</i> ATCC BAA-487		35°C / 48 h / A	god tillväxt
<i>P.aeruginosa</i>	ATCC 9027	35°C / 72 h / A	Tillväxthämning
<i>S.aureus</i>	ATCC 6538	35°C / 72 h / A	Tillväxthämning

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

### 12 - PRESTANDAUTVÄRDERING

Prestanda utvärderades med en intern studie genom att förbereda BCSA-plattor (REF 541153) med dehydrerad BCSA Base (REF 4011532) kompletterad med BCSA Selective Supplement (REF 4240073)

Prestanda utvärderades med kvalitativ ekometrisk teknik med inkubering vid 35°C i 24-72 timmar, med 40 bakteriestammar, 18 kliniska isolat och 22 ATCC-derivat: *B.cepacia* 11, *B.cenocepacia* 2, *B.multivorans* 1, *P.aeruginosa* 15, *P.fluorescens* 2, *A.baumannii* 2, andra gramnegativa bakterier 4, grampositiva bakterier 2, jästsvamp 1.

Produktivitet: de 14 stammarna av *Burkholderia* spp. växte efter 24 timmar och morfologin och färgförändringarna var fullständiga efter 72 timmar.

Selektivitet: de övriga 25 bakteriestammarna och jästen hämmades fullständigt inom 72 timmar, med undantag för *Providencia stuartii* som inte hämmas av BCSA.

Produktiviteten utvärderades också med kvantitativ spread plate-teknik med Columbia Blood Agar (CBA)-plattor med 2 stammar av *B.cepacia*, 1 stam av *B.cenocepacia*, 1 stam av *B.multivorans* som referensmedium. Efter inkubation vid 35°C i 48 timmar beräknades produktivitetsförhållandet ( $CFU^{BCSA} / CFU^{CBA} \times 100$ ) och visade sig vara högre än 0.5.

Före försäljning testas ett representativt prov av alla partier av BCSA Selective Supplement som tillsatts till dehydrerad BCSA Burkholderia Cepacia Selective Agar Base för produktivitet och selektivitet genom att resultaten jämförs med tidigare godkända referenspartier.

Produktiviteten testas med semikvantitativ ekometrisk teknik med följande målstammar: *B.cepacia* ATCC 25416, *B.cepacia* ATCC 25608 *B.cepacia* kliniskt isolat, *B.cenocepacia* ATCC BAA-245, *B.multivorans* ATCC BAA-247, *B.multivorans*, kliniskt isolat. Efter inkubering vid 35°C i 18-24 timmar observeras och registreras färgen på mediet och kolonierna samt mängden tillväxt. De kromatiska egenskaperna och teststammarnas tillväxt skall vara i överensstämmelse med specifikationerna och jämförbara i båda satserna.

Selektiviteten utvärderas med modifierad Miles-Misra ytdroppsmetod genom inokulering av plattorna med lämpliga decimalutspädningar av en 0.5 McFarland-suspension av icke-målstammarna *P.aeruginosa* ATCC 9027, *P.fluorescens* ATCC 13525, *S.aureus* ATCC 6538, *E.faecalis* ATCC 29212, *B.subtilis* ATCC 6633, *C.albicans* ATCC 10231. Efter inkubering vid 35°C i 72 timmar hämmas tillväxten av icke-målstammar helt vid spädningen.

### 13 - METODENS BEGRÄNSNINGAR

- Den gula färgförändringen i mediet indikerar nedbrytning av sackaros och/eller laktos under försurning; denna nedbrytning förekommer inte nödvändigtvis i alla Bcc-stammar. Därför rekommenderas att alla typer av kolonier som odlas på BCSA genomgår identifieringstester.
- Det finns rapporter om att stammar av *Burkholderia gladioli* och *Pseudomonas* spp. kan isoleras på BCSA.<sup>3</sup>
- Även om BCSA-mediets överlägsenhet för isolering av Bcc är erkänd, rapporterar Plonga<sup>6</sup> att 7 stammar av 43 inokulerade (sensitivitet 86%) inte växte på ett marknadsfört BCSA. Det är därför möjligt att det finns Bcc-stammar som kan vara känsliga för antibiotika som finns i mediet.
- Snabbväxande mykobakterier (RGM) kunde utvinnas från rutinodlingar av prover från patienter med cystisk fibros genom att förlänga inkuberingen av BCSA till 7 dagar.<sup>7</sup> Denna strategi för isolering av RGM ger dock fortfarande sämre resultat än användning av mer specifika medier.<sup>5</sup>
- Identifieringen av Bcc-medlemmar kan vara problematisk eftersom *B.cepacia* har en varierande genetisk sammansättning som gör det svårt att göra en korrekt identifiering med hjälp av fenotypiska tester. Många biokemiska testsystem har svårt att skilja mellan släktena *Ralstonia*, *Burkholderia*, *Cupriavidus*, *Pandoraea*, *Achromobacter*, *Brevundimonas*, *Comamonas* och *Delftia*; detta förvärras när man försöker skilja inom *Burkholderia*-släktet (artmedlemmarna är fylogenetiskt mycket nära släkt med små skillnader i form av fenotypiska egenskaper). *B.cepacia* är t.ex. nära besläktad med bakteriearten *B. gladioli*.<sup>5</sup>
- Testtiden för ett läkemedelsprov måste beaktas. Den mikrobiella tillväxtkinetiken hos många Bcc-organismer kan, på grund av deras återhämtning från förhållanden med låg näringshalt, ofta resultera i en förlängd fördröjningsfas. Dessutom kan vissa produktionsredienser ha en inverkan på den mikrobiella tillväxtkinetiken: om testet utförs för tidigt kan det finnas otillräckligt med bakterieceller för att en Bcc-förorening ska kunna upptäckas.<sup>8</sup>
- USP-testets förmåga att detektera Bcc i närvaro av den produkt som skall testas måste fastställas. Inkubationstiden för metodens lämplighet får inte överskrida den kortaste angivna inkubationstiden.<sup>1</sup>
- Tolkningen av resultaten måste göras med hänsyn till patientens kliniska historia, provets ursprung och resultaten av de mikroskopiska och/eller andra diagnostiska testerna.

### 14 - FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER OCH VARNINGAR

- Tillägget är en kvalitativ *in vitro*-diagnostik, endast för yrkesmässigt bruk; det måste användas av adekvat utbildad och kvalificerad laboratoriepersonal, som iakttar godkända försiktighetsåtgärder vid biologisk fara och aseptisk teknik.
- Antibiotika som innehåller kosttillskott måste hanteras med lämpligt skydd; läs säkerhetsdatabladet före användning.
- Tillägget och mediebasen skall användas tillsammans enligt de anvisningar som beskrivs ovan. Tillämpa god tillverkningssed i produktionsprocessen för beredda medier.
- Tillskottet steriliseras genom membranfiltrering.
- Var försiktig när du öppnar metallringen för att undvika skador.





- Alla laboratorieprover bör betraktas som infektiösa.
- Laboratorieområdet måste kontrolleras för att undvika föroreningar som mediumpulver och supplement eller mikrobiella agens.
- Sterilisera allt biologiskt riskavfall innan det kasseras. Kassera oanvända supplement och steriliserade medier som inokulerats med prover eller mikrobiella stammar i enlighet med gällande lokal lagstiftning.
- Använd inte supplement som aktiva ingredienser i farmaceutiska beredningar eller som produktionsmaterial avsedda för konsumtion av människor och djur.
- Analyscertifikaten och säkerhetsdatabladet för produkten finns tillgängliga på webbplatsen [www.biolifeitaliana.it](http://www.biolifeitaliana.it).
- Meddela Biolife Italiana Srl ([complaint@biolifeitaliana.it](mailto:complaint@biolifeitaliana.it)) och berörda myndigheter om alla allvarliga incidenter som inträffar i samband med användningen av *in vitro*-diagnostik.
- 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 samtliga fall måste gällande lokala lagar, förordningar och standardprocedurer följas för undersökning av prover som samlats in från organiska områden från människor och djur, för miljöprover och för produkter avsedda för konsumtion av människor eller djur. Vår information befriar inte våra kunder från deras ansvar att kontrollera att vår produkt är lämplig för det avsedda ändamålet.

### 15 - FÖRVARINGSFÖRHÅLLANDEN OCH HÅLLBARHET

Efter mottagandet ska produkten förvaras i originalförpackningen vid 2-8°C och skyddas från direkt ljus. Vid korrekt förvaring kan produkten användas fram till det utgångsdatum som anges på etiketten; använd inte produkten efter detta datum. När injektionsflaskan har öppnats och den frystorkade produkten har rekonstituerats, ska den resulterande lösningen användas omedelbart. Före användning ska den frystorkade och rekonstituerade produkten undersökas och kasseras om det finns uppenbara tecken på försämring (t.ex. kontaminering, atypisk färg eller andra onormala egenskaper).

Användaren ansvarar för tillverkning och kvalitetskontroll av pläterade medier och validering av deras hållbarhet, enligt de tilläpade lagringsförhållandena (temperatur och förpackning).

### 16 - REFERENSER

1. USP <60> Microbiological Examination of Non-sterile Products: Tests for Burkholderia cepacia complex. December 1, 2019.
2. AMCLI-SIFC Raccomandazioni per l'esecuzione delle indagini microbiologiche di campioni delle vie respiratorie di pazienti con fibrosi cistica. 2010.
3. Public Health England. (2019). Investigation of bronchoalveolar lavage, sputum and associated specimens. UK Standards for Microbiology Investigations. B 57 Issue 3.5. <https://www.gov.uk/uk-standards-for-microbiology-investigations-smi-quality-andconsistency-in-clinical-laboratories>.
4. Henry DA, Campbell ME, LiPuma JJ, McGimpsey C et al. Comparison of isolation media for recovery of Burkholderia cepacia complex from respiratory secretions of patients with cystic fibrosis. J Clin Microbiol 1999; 37(4):1004-1007.
5. Henry DA, Campbell ME, JJ, Speert DP. Identification of Burkholderia cepacia isolates from patients with cystic fibrosis and use of a simple new selective medium. J Clin Microbiol 1997; 35:614-619.
6. Plongla R, Preece CL, Perry JD, Gilligan P. Evaluation of RGM Medium for Isolation of Nontuberculous Mycobacteria from Respiratory Samples from Patients with Cystic Fibrosis in the United States. J Clin Microbiol 2017; 55(5):1469-1477
7. Esther CR Jr, Hoberman S, Fine J, Allen S, et al. Detection of rapidly-growing mycobacteria in routine cultures of samples from patients with cystic fibrosis. J Clin Microbiol 2011; 49:1421-1425.
8. Sandle T. Burkholderia cepacia complex: Review of origins, risks and methodologies. 2018. [www.europeanpharmaceuticalreview.com/article/80557/burkholderia-cepaciacomplex-review-of-origins-risks-and-test-methodologies/](http://www.europeanpharmaceuticalreview.com/article/80557/burkholderia-cepaciacomplex-review-of-origins-risks-and-test-methodologies/)

### BCSA SELEKTIVT SUPPLEMENT 4240073

SDS rev 1

Förordning (EU) 2020/878

Innehåller: gentamycinsulfat, vankomycin HCl

### Klassificering

Sensibilisering av huden, kategori 1

H317

Kan orsaka en allergisk hudreaktion.

### Märkning

Pictogram



Signalord

Varning

Faraangivelse(r)

H317

Kan orsaka en allergisk hudreaktion.

Försiktighetsåtgärder:

P280

Använd skyddshandskar.

P261

Undvik att andas in damm / rök / gas / dimma / ångor / spray.

P333+P313

Om hudirritation eller hudutslag uppstår: Kontakta läkare/vårdpersonal.

P362+P364

Ta av kontaminerade kläder och tvätta dem innan de används igen.





## TABELL ÖVER TILLÄMPLIGA SYMBOLER

 eller REF Katalognummer	 Batch kod	 <i>In vitro</i> - diagnostik Medicintek- niska utrustning	 Tillverkare	 Denna sida upp	
 Temperatur begränsning	 Innehåll tillräckligt för <n> tester	 Konsultera bruksanvisni- ngen	 Hållbarhet	 Förvaras åtskilt från direkt ljus	 Bräcklig, hanteras varsamt

## REVISIONSHISTORIK

Version	Beskrivning av ändringar	Datum
Revidering 4	Anpassning till det engelskspråkiga revisionsindexet	2023/04

Obs: mindre typografiska, grammatiska och formateringsmässiga ändringar ingår inte i revisionshistoriken.

