

## GEBRAUCHSINFORMATION

---

### EZ-CFU™ One Step-Mikroorganismen

---

Die EZ-CFU™ One Step-Mikroorganismen sind lyophilisierte Mikroorganismenpräparationen, die Keimzahlen  $< 100$  KBE/0,1 ml bereitstellen und die für Validierungen nach den Richtlinien der Arzneibücher für die Testung auf Bakteriotase, Fungistase, wachstumsfördernde Eigenschaften von Nährmedien oder, bei nicht-sterilen Produkten, zur Prüfung auf An-/Abwesenheit bestimmter Mikroorganismen verwendet werden.

---

#### Verwendungszweck

**EZ-CFU™ One Step Mikroorganismen** sind lyophilisierte und geprüfte Kontrollmikroorganismenpräparationen für den Gebrauch in Industrielaboratorien.

Entsprechend der Arbeitsvorschriften, liefern diese Präparationen einen Assay-Wert von  $< 100$  KBE/0,1 ml. Dies ist die geforderte Konzentration für eine Vielzahl von pharmazeutischen Prüfungen, einschließlich der Testung von Kulturmedien im Rahmen der Sterilitätstestung.

Diese Mikroorganismenpräparationen lassen sich auf authentische, anerkannte Stammsammlungen, wie die American Type Culture Collection (ATCC) zurückführen.

#### Zusammenfassung und Vorgeschichte

Viele Labortestverfahren zur Qualitätssicherung und -kontrolle schreiben vor, daß eine bestimmte Konzentration des Teststamms verwendet wird, und daß der Teststamm nur begrenzt häufig von einer Referenzkultur passagiert oder subkultiviert werden kann, um Mutationen oder unmerkliche Veränderungen seiner Eigenschaften zu verhindern.

Traditionelle Methoden der Präparierung von Teststämmen in bestimmten Konzentrationen sind zeit- und personalaufwendig. Das Labor erwirbt einen bestimmten ATCC-Stamm, läßt ihn wachsen, setzt die Verdünnungen an und führt bei jeder Verdünnungsstufe Koloniezählungen durch, um die im Testverfahren einzusetzende Konzentration zu bestimmen. Abschließend werden die Verdünnungen des Teststamms für die aktuelle Anwendung angesetzt. Weiterhin werden bei jeder Subkultur phänotypische Tests (biochemische Aktivität und morphologische Untersuchungen) durchgeführt um sicherzustellen, daß keine Mutationen oder Veränderungen eingetreten sind.

#### **EZ-CFU™ One Step Mikroorganismen**

stellen eine kostengünstige Alternative zu den laborintensiven Verdünnungs- und Koloniezählverfahren dar. Sie erfordern nicht die Laborausstattung, die zur in-house Verarbeitung und Erhaltung von Teststämmen mit definierter Keimzahl notwendig sind. Es wird ein Routine-

Qualitätssicherungsverfahren durchgeführt, das Mutationen und Veränderungen ausschließt.

#### Prinzip

**EZ-CFU™ One Step Mikroorganismen** sind Mikroorganismenpräparationen, die auf einem Lyophilisierungsverfahren von Yamai et. Al. basieren. Diese Methode verwendet ein Suspensionsmedium aus Gelatine, Magermilch, Ascorbinsäure, Dextrose und Aktivkohle. Die Gelatine dient als Trägermaterial, Magermilch, Ascorbinsäure und Dextrose schützen die Unversehrtheit der Zellwand während der Gefriertrocknung und der Lagerung. Aktivkohle wird zur Neutralisierung evtl. bei der Lyophilisierung auftretender toxischer Substanzen verwendet.

Eine patentrechtlich geschützte Technologie steuert einen Herstellungsprozeß, in dem lyophilisierte Mikroorganismen mit einer definierten Keimzahl produziert werden.

#### Zusammensetzung

Die lyophilisierten Präparationen enthalten:

- Gelatine
- Magermilch
- Ascorbinsäure
- Dextrose
- Aktivkohle

Die Hydratisierungsflüssigkeit ist eine anwendungsbereite Lösung, basierend auf einem Phosphatpuffer mit einem pH-Wert von 7,2.

Die Lösung enthält

- Kaliumdihydrogenphosphat
- Natriumhydroxid
- Deionisiertes Wasser

# GEBRAUCHSINFORMATION

## Spezifikationen und Leistungsmerkmale

Jeder **EZ-CFU™ One Step Mikroorganismus** ist in Kitformat verpackt. Das Kit enthält:

- zwei (2) Fläschchen mit jeweils zehn(10) Pellets eines lyophilisierten Stamms
- zehn (10) Fläschchen mit je 2 ml Hydrationsflüssigkeit
- eine ausführliche Gebrauchsanweisung
- sowie ein Analysenzertifikat

Der Herstellungsprozeß für die **EZ-CFU™ One Step Mikroorganismen** ist so konzipiert, daß, wenn man entsprechend der Vorschrift verfährt, eine Keimzahl von < 100 KBE/0,1 ml vorliegt.

Das Analysenzertifikat schließt folgendes ein, ist aber nicht darauf beschränkt:

- die Echtheit und Rückverfolgbarkeit der Mikroorganismen zu einer Referenzkultur
- die Anzahl der Passagen
- den mittleren Assay-Wert für jeden Stamm

## Vorsichtsmaßnahmen und Einschränkungen

Die Produkte sind zur in-vitro-Verwendung vorgesehen

Die gelieferten Produkte und die bewachsenen Kulturmedien, einschließlich aller verwendeter Hilfsmittel, gelten als biologisches Risikomaterial.

Die Produkte enthalten lebensfähige Mikroorganismen, die unter bestimmten Bedingungen Krankheiten hervorrufen können. Ein ordnungsgemäßer Umgang mit Ihnen ist erforderlich, um eine Exposition oder einen Kontakt mit der Kultur zu vermeiden.

- Das mikrobiologische Labor muß so ausgestattet sein und die Voraussetzungen dafür erfüllen, daß es biologisches Risikomaterial beziehen, verarbeiten, halten, lagern und entsorgen kann.
- Das mit diesen Produkten arbeitende Personal im mikrobiologischen Labor muß für die Verarbeitung, Haltung, Lagerung und Entsorgung von biologischem Risikomaterial ausgebildet sein sowie über die nötige Erfahrung und entsprechende Fertigkeiten verfügen.
- Gesetze und Vorschriften regeln die Entsorgung jeglichen biologischen Risikomaterials. Jedes Labor muß mit der ordnungsgemäßen Entsorgung von biologischem Risikomaterial vertraut sein und die entsprechenden Vorschriften einhalten.

## Lagerung und Haltbarkeit

**EZ-CFU™ One Step Mikroorganismen und die Rehydrationsflüssigkeit** werden bei 2 - 8°C in ihrer verschlossenen Originalverpackung gelagert.

Bei vorschriftsmäßiger Lagerung bleiben die Spezifikationen und Leistungsmerkmale der lyophilisierten Mikroorganismen bis zum angegebenen Verfallsdatum bestehen.

**EZ-CFU™ One Step Mikroorganismen** dürfen nicht verwendet werden, wenn sie

- unsachgemäß gelagert wurden
- es Anzeichen übermäßiger Wärme- oder Feuchtigkeitseinwirkung gibt oder
- das Verfallsdatum überschritten ist.

## Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

- **Sterile Pinzetten**  
Für die Übertragung der lyophilisierten Pellets in die Hydrationslösung ist eine sterile Pinzette erforderlich.
- **Sterile Pipetten**  
Für die Inokulierung des Mediums/der Medien werden sterile Pipetten benötigt.

## Produktgarantie

- Es wird gewährleistet, daß diese Produkte die in den Beipackzetteln, illustrierten Gebrauchsanweisungen und in der Begleitdokumentation wiedergegebenen und beschriebenen Spezifikationen und Leistungsparameter erfüllen.
- Die ausdrückliche oder stillschweigende Gewährleistung ist eingeschränkt, wenn
  - Die im Labor angewendeten Verfahren den gedruckten oder illustrierten Hinweisen und Anweisungen zuwider laufen oder
  - Die Produkte für andere als auf den Beipackzetteln, in der Gebrauchsanweisung und in der Begleitdokumentation angegebene Verwendungszwecke benutzt wurden.

## Gebrauchsanweisung

### A. Materialvorbereitung

Alle Materialien, die erforderlich sind für eine korrekte Verarbeitung, sollten unmittelbar nach der Rehydrationslösung bereitstehen. Nach der Hydrationslösung des lyophilisierten Stammes sollte die Inokulation innerhalb von **dreißeig (30) min** abgeschlossen sein, um eine Reduzierung der Keimzahl der Impfsuspension zu vermeiden.

## GEBRAUCHSINFORMATION

### B. Rehydrierung

Bei der Rehydrierung muß die beiliegende Gebrauchsanweisung beachtet und die im Kit mitgelieferte Hydratisierungslösung verwendet werden. Diese ist so zusammengesetzt, daß die Rehydrierung, die Auflösung der Pelletmatrix und die Homogenität der Organismensuspension optimiert werden. Wenn andere Flüssigkeiten zur Rehydrierung verwendet werden, kann es sein, daß diese kritischen Punkte nicht optimal bedient werden.

1. Nehmen Sie das Fläschchen mit der Hydratisierungslösung und das Fläschchen mit dem lyophilisierten Stammpräparat aus dem Kühlschrank. Warten Sie, bis das lyophilisierte Stammpräparat Raumtemperatur (22 – 25°C) angenommen hat. Erwärmen Sie die Hydratisierungsflüssigkeit vor deren Verwendung auf 35 – 37°C.
2. Mit einer sterilen Pinzette zwei (2) Pellets entnehmen und in die zwei (2) ml Hydratisierungsflüssigkeit überführen. Nicht das Trockenmittel entfernen.

**Es müssen unbedingt zwei Pellets gleichzeitig verwendet werden, um die angegebene Keimzahl zu erzielen.** Sofort den Gummistopfen wieder aufsetzen, das Glasgefäß verschließen, das verbleibende lyophilisierte Material in den Kühlschrank zurücksstellen und bei 2 – 8°C lagern.

3. Das Glasgefäß mit dem hydrierten Material verschließen und **dreißeig Minuten (30 min) in den Brutschrank bei 35 – 37°C stellen**, bis eine vollständige Hydratation erfolgt ist.
4. Sofort nach Abschluß der Inkubation mit einer sterilen Pipette jeweils 100 µl der Mikroorganismensuspension entnehmen und das Inokulum auf die vorbereiteten Medien übertragen.
5. Entsprechend der Arbeitsanweisung weiter verfahren.

### C. Wichtige technische Aspekte

1. Die hydratisierte Mikroorganismensuspension muß innerhalb von 30 min verwendet werden, um die Lebensfähigkeit des Mikroorganismus zu gewährleisten.
2. Entsorgen Sie alles verbleibende hydratisierte Material gemäß der Laborvorschrift zur Entsorgung biologischer Risikomaterialien.

Mit einem einfachen Verfahren kann überprüft werden, ob der Testansatz ordnungsgemäß durchgeführt wurde.

- Pipettieren Sie 0,1 ml der hydrierten Mikroorganismensuspension auf die Oberfläche eines geeigneten nicht-selektiven Agarmediums. Verteilen Sie die Suspension gleichmäßig auf der Ober-

fläche des Mediums und lassen Sie sie antrocknen und in das Medium eindringen.

1. Bebrüten Sie das Medium in Übereinstimmung mit dem Laborprotokoll.
2. Ermitteln Sie anschließend die Anzahl der koloniebildenden Einheiten (KBE).

### Beseitigung von biologischem Risikomaterial

Für den Fall einer Leckage oder eines unbeabsichtigten Verschüttens bzw. eines nachfolgenden Wachstums des Mikroorganismus auf dem Agarmedium werden im folgenden Informationen über Materialien und Verfahren angegeben, mit denen biologisches Risikomaterial sicher beseitigt werden kann.

#### 1. Datenblatt zur Materialsicherheit (DBMS)

Alle DBMS-Unterlagen über biologische Risikomaterialien sind zu archivieren.

Das DBMS-Archiv muß allen Mitarbeitern zugänglich sein.

Alle Mitarbeiter müssen den Standort des DBMS-Archivs kennen.

#### 2. Biogefährungskits

Kits zur Anwendung bei Biogefährdung durch Zerbrechen oder Verschütten sind kommerziell erhältlich oder können aus den folgenden Materialien selbst hergestellt werden:

- Einer 1 l Flasche mit einer wäßrigen, keimabtötenden Lösung
- Ein Paar Einmalhandschuhen, (Latex und/oder Latex-frei)
- Einer Pinzette
- Einem Beutel für biologisches Risikomaterial mit Verschuß und
- Einem Stapel oder einer Rolle Papiertücher

#### 3. Verfahren

- Informieren Sie **alle** in der unmittelbaren Umgebung des Vorfalls arbeitenden Personen.
- Lassen Sie den Ort **nicht** unbeaufsichtigt (es sei denn, Sie sind die einzige Person in dem Bereich). Beauftragen Sie einen Mitarbeiter mit der Beaufsichtigung der Stelle, an der sich der Vorfall ereignete. Halten Sie weitere Personen fern.
- Holen Sie den Entsorgungsbehälter und kehren Sie unverzüglich an die Unfallstelle zurück.
- Streifen Sie die Einmalhandschuhe über.
- Nehmen Sie mit der Pinzette soviel Material wie möglich auf und geben Sie es vorsichtig in den Beutel für biologisches Risikomaterial.

## GEBRAUCHSINFORMATION

---

- Tränken Sie die Stelle, an der das Material verschüttet wurde, mit der keimtötenden Lösung (Einwirkzeit nach Vorschrift).
- Wischen Sie die Reste mit den Papiertüchern trocken.
- Entsorgen Sie alle Papiertücher in dem Beutel für biologisches Risikomaterial.
- Nach der Reinigung sind die Handschuhe vorsichtig abzustreifen und ebenfalls in dem Beutel zu entsorgen.
- Verschließen Sie diesen gut und entsorgen Sie ihn gemäß der gesetzlichen Vorschriften.

### Qualitätskontrolle

Diese Produkt wird entwickelt, hergestellt und vertrieben:

- Unter Einhaltung der Auflagen der FDA; Quality System Regulation; 1996 (QSR)
- In Übereinstimmung mit den Elementen von ISO 9001:2000

Die Qualitätskontrollfunktionen schließen folgende Prüfungen ein, sind aber nicht darauf beschränkt:

- Reinheits- und Wachstumsmerkmale
- Morphologische Aspekte
- Biochemische Aktivität
- Mittlerer Assay-Wert
- Die Echtheit und Rückverfolgbarkeit der Mikroorganismenpräparation auf eine Referenzkultur und
- Die Anzahl der Passagen, mit denen die Präparation der Referenzkultur entnommen wurde.

Die Entscheidung über eine zusätzliche Qualitätskontrolle obliegt dem jeweiligen Labor.

### Referenzen

Die nachstehend aufgeführte Veröffentlichung diene als Grundlage für die im Zusammenhang mit diesen Mikroorganismenpräparationen angewendete Lyophilisierungsmethode.

1. S. Yamai, T. Nikkawa, Y. Shimoda und Y. Miyamoto. 1081. J. Clin. Microbiol. 14:61-66

Die Auswahl von geprüften Mikroorganismenpräparationen ist lediglich ein fester Bestandteil des Gesamtsystems der Verfahren und Methoden der Qualitätsbewertung und Qualitätskontrolle. Absolut wichtig ist die Bezugnahme auf Richtlinien für die jeweiligen Laboranwendungen.

1. US-Pharmacopoeia 25 und National Formulary 20.
2. European Pharmacopoeia Addendum 2001
3. Japanese Pharmacopoeia XII Supplement II.

ATCC ist ein Warenzeichen von  
The American Type Culture Collection  
Manassas, Virginia 20110 USA

### Vertrieb durch:

DOENITZ PROLAB  
PROFESSIONAL LABSERVICE  
Ulmer Str. 160 a  
D-86156 Augsburg

Tel.: 08 21 / 4 40 15 90  
Fax: 08 21 / 4 40 15 92  
E-Mail: [prolab@doenitz.de](mailto:prolab@doenitz.de)  
<http://www.doenitz-prolab.de>