EZ-PEC™ Mikroorganismen

Die EZ-PEC™ Mikroorganismen sind geprüfte Präparate für Challenge-Testverfahren zur Feststellung der antimikrobiellen Wirksamkeit und der Konservierungseffektivität.

VERWENDUNGSZWECK

Die **EZ-PEC™ (Preservative Efficacy Challenge) Mikroorganismen** sind lyophilisierte und geprüfte Kontroll-Mikroorganismenpräparate für den Gebrauch in Industrielabors.

Die Anwendungen für diese Mikroorganismenpräparate umfassen geprüfte Challenge Tests zur Feststellung der antimikrobiellen Wirksamkeit und der Konservierungseffektivität

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 oft von einer Referenzkultur übernommen oder überimpft werden kann, um Mutationen und unmerkliche Leistungsveränderungen 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 Verdünnung Kolonienzählungen durch, um die im Testverfahren einzusetzende Konzentration zu bestimmen. Danach werden die schließlich verwendeten Verdünnungen für den Teststamm angesetzt. Weiterhin werden bei jedem Subkultur-Schritt phänotypische Tests (biochemische Aktivität und morphologische Prüfungen) durchgeführt, um sicherzustellen, dass keine Mutationen oder Veränderungen stattgefunden haben.

Die EZ-PEC™ Mikroorganismen bilden eine kostengünstige Alternative zu den personalaufwendigen Verdünnungs- und Kolonienzählverfahren. Sie erfordern nicht die Laborausstattung, die für die Verarbeitung und Erhaltung der Teststammkonzentrationen benötigt wird. Es wird ein Routine-Qualitätssicherungsverfahren durchgeführt, das die Abwesenheit von Mutationen und Veränderungen unterstützt.

PRINZIP

EZ-PEC™ Mikroorganismen verwenden ein Lyophilisierungsverfahren, über das Yamai et.al. berichten und bei dem eine Suspension aus Gelatine, Magermilch, Ascorbinsäure, Dextrose und Aktivkohle eingesetzt wird. Die Gelatine dient als Trägermaterial für die Mikroorganismen. Magermilch, Ascorbinsäure und Dextrose schützen den Mikroorganismus, indem sie die Unversehrtheit der Zellwand während der Gefriertrocknung und der Lagerung gewährleisten. Aktivkohle wird zur Neutralisierung eventueller bei der Lyophilisierung entstehender toxischer Substanzen verwendet.

Eine patentrechtlich geschützte Technik beinhaltet einen Herstellungsprozess, der lyophilisierte Mikroorganismen in einer vorher festgelegten Konzentration produziert.

FORMELBESTANDTEILE

Das lyophilisierte Präparat enthält:

- Eine geprüfte Mikroorganismuspopulation;
- Gelatine;
- Magermilch;
- Ascorbinsäure;
- Dextrose und
- Aktivkohle

Die Hydratisierungslösung ist eine Arbeitslösung aus einem Phosphatpuffer von pH 7,2. Die Lösung enthält:

- Monobasisches Kaliumphosphat;
- Natriumhydroxid; und
- Wasser

SPEZIFIKATIONEN UND LEISTUNGSMERKMALE

Die **EZ-PEC™ Mikroorganismen** sind in Kit-Konfigurationen verpackt. Jedes Kit enthält:

- zwei (2) Fläschchen mit je zehn (10) Pellets eines einzigen lyophilisierten Stamms;
- zehn (10) Fläschchen mit je 2,0 ml Hydratisierungslösung;
- eine ausführliche Gebrauchsanweisung; sowie
- ein Assay-Zertifikat.

Der Herstellungsprozess für diese lyophilisierten Mikroorganismenpräparate ist so konzipiert, dass sich ein mittlerer Assay-Wert ergibt, der in folgenden Bereich fällt:

♦ <u>Lyophilisiertes Präparat</u>
Die Konzentration jedes lyophilisierten Präparats liegt zwischen:
20.000.000 (2,0E+07) KBE
und
99.000.000 (9,9E+07) KBE

♦ <u>Testpräparat</u>
Nach der Hydratisiserung liegt die Testkonzentration zwischen:
2.000.000 (2,0E+06) KBE pro 0.1 ml
und
9.900.000 (9,9E+06) KBE pro 0,1 ml

Hinzufügen von 0,5 oder 1,0 Prozent (%) dieser Suspension zum Testprodukt ergibt eine Endkonzentration des Testpräparats

von 1,0E+05 bis 1,0E+06 pro ml des Produkts.

Die Qualitätssicherungsdokumentation umfasst, ist aber nicht beschränkt auf ein Assay-Zertifikat, das angibt:

- die Echtheit und Rückverfolgbarkeit des Mikroorganismenpräparats auf eine Referenzkultur;
- die Anzahl der Passagen, mit denen das Mikroorganismenpräparat der Referenzkultur entnommen wurde; sowie
- den mittleren Assay-Wert für das Mikroorganismenpräparat.

VORSICHTSMASSNAHMEN UND EINSCHRÄNKUNGEN

Die Produkte sind nur zur In-vitro-Verwendung vorgesehen.

Die gelieferten Produkte und das nachfolgende Wachstum der Mikroorganismen auf Kulturmedien 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 der Kultur zu vermeiden.

- Das mikrobiologische Labor muss so ausgestattet sein und die entsprechenden 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 über Informationen für die ordnungsgemäße Entsorgung von biologischem Risikomaterial verfügen und die entsprechenden Vorschriften einhalten.

LAGERUNG UND VERFALLSFRIST

Lagern Sie die **EZ-PEC™ Mikroorganismen** und die Hydratisierungslösung bei 2°C bis 8°C im versiegelten Originalfläschchen.

Bei vorschriftsmäßiger Lagerung bleiben die Kennwerte und Leistungsmerkmale der lyophilisierten Mikroorganismen im Rahmen der angegebenen Grenzen bis zu dem auf dem Erzeugnis aufgedruckten Verfallsdatum erhalten.

Die **EZ-PEC™ Mikroorganismen** dürfen nicht verwendet werden, wenn:

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

ERORDERLICHE, ABER NICHT MITGLIEFERTE MATERIALIEN

Für die Beimpfung des zu testenden Materials werden sterile Pipetten benötigt.

PRODUKTGARANTIE

- Es wird gewährleistet, dass diese Produkte die in den Beipackzetteln, in der Gebrauchsanweisung 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 und illustrierten Hinweisen und Anweisungen zuwider laufen oder
  - die Produkte für andere als auf den Beipackpackzetteln, in der Gebrauchsanweisung und in der Begleitdokumentation angegebene Verwendungszwecke benutzt werden.

GEBRAUCHSANWEISUNG

A. Materialvorbereitung

1. Die Hydratisierungslösung und alle für das Testverfahren benötigten Materialien sowie die zu testenden Materialien müssen unverzüglich nach dem Hydratisierungsschritt einsatzbereit sein.
2. Nach der Hydratisierung des lyophilisierten Stamms MUSS (MÜSSEN) die Testbeimpfung(en) innerhalb von dreißig (30) Minuten abgeschlossen sein, um eine Verminderung der CFU-Konzentration der Testsuspension zu vermeiden.
3. Die Hydratisierungslösung MUSS vor der Verwendung auf 35°C bis 37°C erwärmt werden.

B. Hydratisierung

1. Nehmen Sie das Fläschchen mit dem lyophilisierten Stammpräparat aus dem Kühlschrank (2°C bis 8°C) und warten Sie, bis das ungeöffnete Fläschchen Raumtemperatur angenommen hat (22°C bis 25°C).
2. Erwärmen Sie VOR der Verwendung die Hydratisierungs- und die Verdünnungslösung auf 35°C bis 37°C.
3. Entnehmen Sie mit einer sterilen Zange ZWEI (2) Pellets und geben Sie sie in das 2,0 ml fassende Fläschchen mit Hydratisierungslösung.
   ES MÜSSEN ZWEI PELLETS VERWENDET WERDEN

4. Verschließen Sie das Fläschchen sofort wieder mit dem Gummistöpsel und der Kappe und stellen Sie das restliche lyophilisierte Material wieder in den Kühlschrank (2°C bis 8°C).
5. Verschließen Sie das Fläschchen mit dem hydratisierten Material unverzüglich wieder mit der Kappe und stellen Sie es bei 35°C bis 37°C für dreißig (30) Minuten in den Inkubator, um eine vollständige Hydratisierung zu gewährleisten.
6. Schütteln Sie das hydratisierte Material sofort nach der Inkubation, um eine homogene Suspension und eine gleichmäßige Verteilung des Teststamms in der gesamten hydratisierten Suspension zu erhalten.
   Achtung: Aktivkohle ist ein wesentlicher Bestandteil des lyophilisierten Pelletpräparats. Nach der Hydratisierung können Aktivkohle-Partikel in der Suspension sichtbar sein.

C. Challenge Test

1. Fahren Sie in Übereinstimmung mit dem Laborprotokoll mit dem Challenge Test fort. Entnehmen Sie z.B. für jeweils 20,0 ml des zu testenden Produkts mit einer sterilen Pipette das gewünschte Volumen (d.h. 0,1 ml bis 0,2 ml) der gut vermischten Suspension und übertragen Sie es auf das auf antimikrobielle Wirksamkeit zu testende Material.

TECHNISCHE BEMERKUNGEN

Das lyophilisierte Mikroorganismenpräparat, die Hydratisierungslösung, das Verfahren und der Prozess unterstützen die folgende Anwendung und sind mit ihr in Übereinstimmung.

A. Testpräparat.

Wie in USP angegeben, liegt die endgültige Testkonzentration der verdünnten Mikroorganismussuspension zwischen 1,0E+05 und 1,0E+06 pro ml des zu testenden Produkts.

B. Geprüftes Kontrollvolumen.

Wie in USP angegeben, muss das Volumen des Testmikroorganismus zwischen 0,5% und 1,0% des Gesamtvolumens des zu testenden Präparats liegen.
Wenn das Gesamtvolumen des zu testenden Präparats z.B. 20,0 ml beträgt, liegt das Testvolumen zwischen 0,1 ml und 0,2 ml.

C. Beispiel für Testkonzentration.

- Der mittlere Assay-Wert des **EZ-PEC™ Mikroorganismus** beträgt 3,5E+07 KBE/ml.
- Nach der Hydratisierung beträgt die Konzentration der Mikroorganismussuspension 3,5E+06 KBE pro 0,1 ml.
- Wenn 0,2 ml der hydratisierten Suspension (7,0E+06 KBE) zu 20,0 ml des zu testenden Materials addiert werden, ergibt sich eine Endkonzentration von 3,5E+05 pro ml.

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. **Überlauf-Kit für biologisches Risikomaterial**
   Überlauf-Kits für biologisches Risikomaterial können im Handel erworben oder mit den folgenden Materialien hergestellt werden:
   - einer Literflasche einer wässrigen keimtötenden Lösung;
   - einem Paar Einmalhandschuhe (Latex und/oder latexfrei);
   - einer Pinzette;
   - einem Beutel für biologisches Risikomaterial mit Verschluss und
   - einem Stapel oder eine 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, und mit der Fernhaltung weiterer Personen.
   - Holen Sie nach Information aller in der unmittelbaren Umgebung tätigen Mitarbeiter den Entsorgungsbehälter für biologisches Risikomaterial 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 es vorsichtig in den Beutel für biologisches Risikomaterial.
- Tränken Sie die Stelle, an der das Material verschüttet wurde, mit einer keimtötenden Lösung.
- Die Unfallstelle sollte so lange mit der keimtötenden Lösung behandelt werden, wie auf der Gebrauchsanweisung der Lösung angegeben ist.
- Wischen Sie die Stelle mit den Papiertüchern trocken.
- Entsorgen Sie alle verwendeten Papiertücher in den Beutel für das biologische Risikomaterial.
- Nach der Reinigung sind die Handschuhe vorsichtig abzustreifen und ebenfalls in den Beutel für biologisches Risikomaterial zu entsorgen.
- Verschließen Sie den Beutel mit dem biologischen Risikomaterial.
- Entsorgen Sie den Beutel für biologisches Risikomaterial gemäß den gesetzlichen Vorschriften.

QUALITÄTSKONTROLLE

Dieses 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 umfassen, aber sind nicht beschränkt auf:

- Reinheits- und Wachstumsmerkmale;
- morphologische Aspekte;
- biochemische Aktivität;
- mittleren Assay-Wert;
- die Echtheit und Rückverfolgbarkeit des Mikroorganismenpräparats auf eine Referenzkultur; und
- die Anzahl der Passagen, mit denen das Mikroorganismenpräparat der Referenzkultur entnommen wurde.

Die Entscheidung über eine zusätzliche Qualitätskontrolle obliegt dem jeweiligen Labor.

REFERENZEN

Die nachstehend aufgeführte Veröffentlichung diente als Grundlage für die im Zusammenhang mit diesen Mikroorganismenpräparaten angewandte Lyophilisierungsmethode.

1. S. Yamai, T. Nikkawa, Y. Shimoda und Y. Miyamoto.1981. J. Clin. Microbiol. 14:61-66.

Die Auswahl von geprüften Mikroorganismenpräparaten 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. Beispiele:

Die folgenden Literaturangaben enthalten Anwendungen für den Gebrauch dieser lyophilisierten Mikroorganismenpräparate mit einer vorbestimmten Anzahl von koloniebildenden Einheiten.

1. The United States Pharmacopeia 25 and The National Formulary 20, 2002. The United States Pharmacopeia Convention, Inc. Rockville, Maryland.
2. CTFA Microbiology Guidelines. The Cosmetic, Toiletry, and Fragrance Association. Washington, D.C.

WEBSITE

Auf unserer Website finden Sie aktuelle technische Informationen und Hinweise zur Lieferbarkeit der Produkte.

www.microbiologics.com

DANKSAGUNG

Hergestellt von:

MicroBioLogics, Inc
217 Osseo Avenue North
St. Cloud, MN 56303 USA
Tel.: +1 320 253 1640
Fax: +1 320 253 6250
Email: info@mbl2000.com

ATCC ist ein Warenzeichen von:

The American Type Culture Collection
Manassas, Virginia 20110 USA