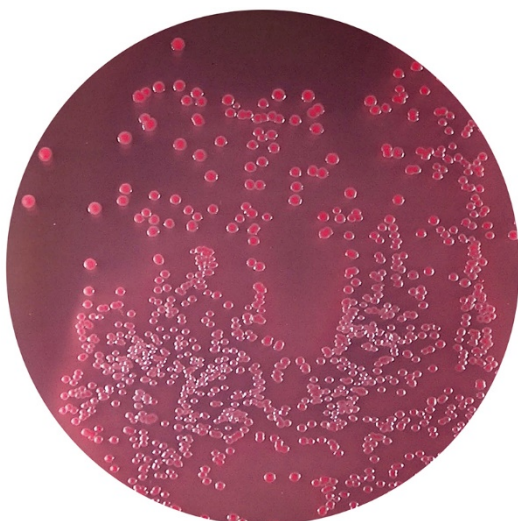


**ANVÄNDNINGSSINSTRUKTIONER****CIN AGAR BASE
YERSINIA SELECTIVE SUPPLEMENT****Dehydratiserat odlingsmedium och selektivt supplement***Yersinia enterocolitica* på CIN-agar**1 – AVSEDD ANVÄNDNING**

In vitro-diagnostik. Selektivt och differentiellt basmedium och selektivt supplement för isolering och karakterisering av *Y. enterocolitica* från kliniska och andra prover.

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

Pepton	20,000 g
Jästextrakt	2,000 g
Mannitol	20,000 g
Natriumpyruvat	2,000 g
Natriumklorid	1,000 g
Magnesiumsulfat	0,010 g
Natriumdesoxikolat	0,500 g
Irgasan	0,004 g
Neutralrött	0,030 g
Krsitallviolett	0,001 g
Agar	12,000 g

*Formeln kan justeras och/eller kompletteras för att uppfylla de erforderliga prestandakriterierna.

YERSINIA SELECTIVE SUPPLEMENT**(INNEHÅLLET I EN FLASKA FÖR 500 ML MEDIUM)**

Cefsulodin	7,50 mg
Novobiocin	1,25 mg

3 – METODENS PRINCIP OCH FÖRKLARING AV FÖRFARANDET

Släktet *Yersinia* omfattar 20 arter, av vilka endast *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* och vissa stammar av *Y. enterocolitica* är patogena för människor, medan de övriga arterna har sitt ursprung i miljön. Av dessa är *Y. enterocolitica* den viktigaste orsaken till livsmedelsburna sjukdomar. *Y. enterocolitica* är en gramnegativ bacill som är rörlig vid temperaturer mellan 22 och 29 °C men orörlig vid 37 °C. Den vanligaste formen av sjukdom orsakad av *Y. enterocolitica* är gastroenterit i samband med konsumtion av kontaminerad mat eller vatten.¹ *Y. enterocolitica* är en heterogen grupp av stammar, som traditionellt klassificeras genom biotypning i sex biogrupper på basis av fenotypiska egenskaper, och genom serotypning i mer än 57 O-serogrupper, på basis av deras O (lipopolysackarid eller LPS) ytantigen. Av de sex biotyperna är fem erkända som patogena (1B, 2–5). Den viktigaste *Y. enterocolitica*-serogruppen i många europeiska länder är serogrupp O:3 följt av O:9, medan serogrupp O:8 främst påvisas i USA.²

Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin (CIN) Agar, som ursprungligen utvecklades 1979 av Schiemann,³ är ett selektivt och differentiellt medium för isolering och karakterisering av *Y. enterocolitica* från kliniska^{1,2} och icke-kliniska prover^{4,5}. Mediet rekommenderas av ISO 10273⁴ och FDA-BAM⁵ för detektion av *Y. enterocolitica* i livsmedel.

Jämfört med MacConkey-agar, CAL-agar och Y-medium har CIN-agar visat sig vara det mest effektiva mediet för återvinning av *Y. enterocolitica*, eftersom det nästan helt hämmar fekalfloran samtidigt som det främjar en riklig tillväxt av *Y. enterocolitica*.⁶

Mediet är mycket selektivt: Schiemann⁶ och Devenish⁷ rapporterade att endast vissa stammar av *C. freundii*, *S. liquefaciens* och *E. agglomerans* växer på CIN-agar; kolonierna av dessa kontaminanter har ett utseende som liknar *Y. enterocolitica*.

Pepton och jästextrakt tillhandahåller näringsämnen för bakterietillväxt. Grampositiva och vissa gramnegativa bakterier (t.ex. *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa*) hämmas av de selektiva ämnena som finns i medietbasen (natriumdesoxikolat, kristallviolett, irgasan) och i det frystorkade supplementet (cefsulodin och novobiocin). Mannitol finns som en fermenterbar kolhydrat: mannitolfermenterande bakterier inducerar förurning av mediet med utfällning av deoxikolat och absorption av neutralt rött; *Y. enterocolitica* odlas därför med det karakteristiska utseendet av "bull's eye"-kolonier: koloniens centrum är djupt rött med en transparent kant. Organismer som inte metaboliserar mannitol till sura slutprodukter bildar färglösa kolonier.

4 – ANVISNINGAR FÖR BEREDNING AV MEDIUM

Lös upp 28,75 g i 500 ml kallt renat vatten. Värm till kokpunkt under ständig omrörning, sterilisera genom autoklavering vid 121 °C i 15 minuter. Kyl till 47–50 °C och tillsätt innehållet i en flaska *Yersinia Selective Supplement* rekonstituerat med 5 ml sterilt renat vatten under aseptiska förhållanden. Blanda väl och håll i sterila petriskålar.

5 – FYSISKA EGENSKAPER**CIN Agar Base**

Utseende på dehydratiserat medium
Utseende på lösning och färdiga plattor
Slutligt pH vid 20–25 °C

rosa-beige, fint, homogent, fritt flytande pulver
rödviolett, klar
7,4 ± 0,2

Yersinia Selective Supplement

Utseende på frystorkat supplement
Utseende på rekonstituerat supplement

kort, kompakt, vit pastill
klart, färglöst



**6 – MEDFÖLJANDE MATERIAL – FÖRPACKNING**

Produkt	Typ	REF	Förpackning
CIN Agar Base	Dehydrerat medium	4013022	500 g (8,7 L)
Yersinia Selective Supplement	Frystorkat supplement	4240011	10 flaskor, var och en för 500 ml medium

7 – MATERIAL SOM KRÄVS MEN INTE TILLHANDAHÅLLS

Autoklav, vattenbad, inkubator och laboratorieutrustning efter behov, sterila öglor och svabbprover, petriskålar, Erlenmeyerkolvar, kompletterande odlingsmedier och reagenser för identifiering av kolonierna.

8 – PROVER

CIN-agar är avsett för bakteriologisk bearbetning av kliniska prover såsom avföring och rektalprov^{1,2} och icke-kliniska prover såsom livsmedel och djurfoder^{4,5}. God laboratorieledning för insamling, transport och förvaring av kliniska prover bör tillämpas.⁸ Samla in prover före antimikrobiell behandling om möjligt. Konsultera lämpliga standardmetoder för detaljer om insamling och beredning av livsmedelsprover.^{4,5}

9 – TESTFÖRFARANDE

Låt plattorna anta rumstemperatur och låt ytan på mediet torka.

Kliniska prover

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.

Avföring kan spädas 1:4 i steril saltlösning eller 0,1 % peptonvatten. Det har visats att spädning avsevärt minskar mängden konkurrerande flora utan att kompromissa med isoleringen av låga antal patogener.²

Inkubera aerobt vid 28–30 °C i 24–48 timmar.²

Prover från livsmedelskedjan⁴

Det allmänna förfarandet omfattar:

- Direktplätning av provsuspension beredd i PSB-buljong* på CIN-agarplatta och inkubation vid 30 °C ± 1 °C i 24 timmar ± 2 timmar, eller
- Anrikning i PSB-buljong och i ITC-buljong** med inkubation vid 25 °C ± 1 °C i 44 timmar ± 4, följt av alkalisk behandling av odlingarna (0,5 ml odling + 4,5 ml KOH 0,5 % i saltlösning i 20 sekunder ± 5 sekunder) och plätning på CIN-agar (inkubation vid 30 °C ± 1 °C i 24 timmar ± 2 timmar).
- Ett andra pläteringsmedium kan väljas av användaren (t.ex. Chromogenic Yersinia Agar)***

Anmärkningar

* Yersinia PSB Broth (REF 402270). ** Yersinia ITC Broth Base REF 402265 med tillsatt Potassium Chlorate Supplement (REF 4240065) och Ticarcillin Irgasan Antimicrobial Supplement (REF 4240060). *** Chromogenic Yersinia Agar Base (REF 408050) med tillsatt Chromogenic Yersinia Supplement (REF 4240095).

10 – AVLÄSNING OCH TOLKNING

Efter inkubation observerar du bakterietillväxten och noterar koloniernas specifika morfologiska och kromatiska egenskaper.

Y. enterocolitica fermenterar mannitol och utvecklar kolonier med djupröda centrum med skarpa kanter (oregelbundna eller hela), omgivna av en yttre zon som vanligtvis är genomskinlig ("bull's eye"-kolonier). Koloniernas storlek, jämnhet och förhållandet mellan kantens och centrumets diameter varierar avsevärt mellan serotyperna.

Mannitol-icke-fermenterare växer med färglösa eller blekgula kolonier.

Tillväxten av icke-*Yersinia*-organismer hämmas markant till helt.

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. Nedan listas några teststammar som är användbara för kvalitetskontroll.⁹

KONTROLLSTAMMAR	INKUBATIONSTEMPERATUR/T/ATM	FÖRVÄNTADE RESULTAT
<i>Y. enterocolitica</i> ATCC 9610	28–30 °C / 18–24 timmar / A	god tillväxt, kolonier med rött centrum
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	28–30 °C / 44–48 timmar / A	hämmad eller delvis hämmad, färglösa kolonier
<i>E. coli</i> ATCC 25922	28–30 °C / 44–48 timmar / A	hämmad
<i>E. faecalis</i> ATCC 19433	28–30 °C / 44–48 timmar / A	hämmad

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

12 – PRESTANDAEGENSKAPER

Innan försäljning testas ett representativt prov av alla partier av dehydrerad CIN-agarbas, kompletterad med Yersinia Selective Supplement, med avseende på produktivitet och selektivitet genom att jämföra resultaten med tidigare godkända referenspartier.

Produktiviteten testas genom ett kvantitativt test med målstammen *Y. enterocolitica* ATCC 23715. Plattorna inokuleras med decimala utspädningar i saltlösning av koloniernas suspensioner och inkuberas aerobt vid 29–31 °C i 18–24 timmar. Kolonierna räknas på testbatchen (TB) och referensbatchen (RB) och produktivetsförhållandet ($Pr = CFU_{TB}/CFU_{RB}$) beräknas. Om Pr är $\geq 0,7$ och om kolonierna uppvisar typiska egenskaper ("bull's eye"-kolonier) anses resultaten vara godtagbara och överensstämmer med specifikationerna.

Dessutom testas produktivetskaraktäristika genom semikvantitativ ekometrisk teknik med målstammarna *Y. enterocolitica* DSM 13030 och *Y. enterocolitica* ATCC 9610. Mängden och de typiska egenskaperna hos tillväxten efter inkubation utvärderas och ska vara jämförbara i båda sätterna.

Selektiviteten utvärderas med modifierad Miles-Misra-ytdroppmetod genom att inokulera plattorna med lämpliga decimala utspädningar i saltlösning av en 0,5 McFarland-suspension av icke-målstammarna *S. marcescens* ATCC 8100, *E. coli* ATCC 8739, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 29212. *S. marcescens* hämmas delvis, medan tillväxten av andra icke-målstammar hämmas helt vid utspädningen 10^{-1} .





13 – METODENS BEGRÄNSNINGAR

- Vid tät tillväxt av bakgrundsflora på CIN-plattorna kan kolonistorleken hos patogena *Y. enterocolitica* vara mindre och den typiska röda mitten kan vara otidlig eller saknas.⁴
- Y. intermedia*, *Y. frederiksenii* och *Y. kristensenii* växer lika bra som *Y. enterocolitica* på CIN-agar och uppvisar samma kolonimorfologi.¹⁰
- Serratia*, *Enterobacter* och *Citrobacter* hämmas dåligt. *Serratia* och *Enterobacter* utvecklar upphöjda och slemmiga kolonier med en diffus rosa pigmentering, även om de ibland kan förväxlas med *Y. enterocolitica*-kolonier. *Citrobacter*-kolonier liknar mest *Yersinia* och kan inte skiljas åt enbart utifrån sina morfologiska egenskaper.¹⁰
- De flesta *Y. pseudotuberculosis*-stammar hämmas av en koncentration på 15 mg/L cefsulodin.¹¹
- Vissa stammar av *Y. enterocolitica* serovar O3 växer inte på CIN-agar.¹¹
- Även om de mikrobiella kolonierna på plattorna kan särskiljas på grundval av sina morfologiska och kromatiska 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.
- Odlingsmediet och supplementet är avsedda som ett hjälpmedel vid diagnos av infektionssjukdomar; tolkningen av resultaten måste göras med hänsyn till patientens kliniska historia, provets ursprung och resultaten av andra diagnostiska tester.

14 – FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER OCH VARNINGAR

- Mediumbasen och supplementet är kvalitativa *in vitro*-diagnostiska produkter, endast avsedda för professionellt bruk. De ska användas av adekvat utbildad och kvalificerad laboratoriepersonal, som iakttar godkända försiktighetsåtgärder mot biologiska risker och aseptiska tekniker.
- Mediumbasen och supplementet ska användas tillsammans i enlighet med beskrivna anvisningar.
- Dehydratiserade medier och antibiotika som innehåller supplement måste hanteras med lämpligt skydd. Konsultera säkerhetsdatabladet före användning.
- Detta odlingsmedium innehåller råmaterial av animaliskt ursprung. Kontroller av djuren *före* och *efter slakt* samt under produktions- och distributionscykeln för råvarorna kan inte helt garantera att produkten 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.
- Tillämpa god tillverkningssed i produktionsprocessen för beredda medier.
- Alla laboratorieprover ska betraktas som smittsamma.
- Laboratorieområdet måste kontrolleras för att undvika föroreningar såsom mediepulver och supplement eller mikrobiella agens.
- Sterilisera allt biologiskt riskavfall innan det kasseras. Kassera oanvänt medium och supplement samt de inokulerade plattorna med prover eller mikrobiella stammar i enlighet med gällande lokal lagstiftning.
- Använd inte odlingsmediet och supplementet som aktiva ingredienser i farmaceutiska preparat eller som produktionsmaterial avsett för konsumtion av människor och djur.
- Analyscertifikaten och säkerhetsdatabladet 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 djurska 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

Dehydrerat medium

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 skadat, om behållaren inte är ordentligt försluten eller om pulvret uppvisar tydliga tecken på försämring (färgförändringar, hårdning, stora klumpar).

Selektivt supplement

Vid mottagandet ska produkten förvaras i originalförpackningen vid +2 °C/+8 °C och skyddas från direkt ljus. Om produkten förvaras på rätt sätt kan den användas fram till utgångsdatumet som anges på etiketten. Använd inte produkten efter detta datum. När flaskan 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 tillverknings- och kvalitetskontrollprocesserna för beredda medier och valideringen av deras hållbarhetstid, beroende på typ (plattor/rör/flaskor) och de tillämpade förvaringsförhållandena (temperatur och förpackning).

16 – REFERENSER

- Petersen MJ, Gladney LM, Schrieffer ME. *Yersinia*. In Jorgensen JH, Carrol KC, Funke G et al. editors. Manual of clinical microbiology, 11th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2015.
- Public Health England. Investigations of Faecal Specimens for Enteric Pathogens. UK Standards for Microbiology Investigations. 2014. B 30 Issue 8.1.
- Schiemann D A. Synthesis of a selective agar medium for *Yersinia enterocolitica*. Can J Microbiol 1979; 25(11):1298-1304.
- ISO 10273:2017 Microbiology of the food chain -- Horizontal method for the detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica*
- U.S. Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual (BAM) Chapter 8: *Yersinia enterocolitica*. Rev 10/2017
- Head CB, Whitty DH, Ratnam S. Comparative Study of Selective Media for Recovery of *Yersinia enterocolitica*. J Clin Microbiol 1982;16:615.
- Schiemann DA. Development of a Two-Step Enrichment Procedure for Recovery of *Yersinia enterocolitica* from Food. Appl Environ Microbiol 1982; 43 :14-27
- Devenish JA, Schiemann DA. An abbreviated scheme for identification of *Yersinia enterocolitica* isolated from food enrichments on CIN (cefsulodin-irgasan-novobiocin) agar. Can J Microbiol 1981; 27: 937-941.
- CLSI (formerly NCCLS) Quality Control of Commercially Prepared Culture Media. Approved Standard, 3rd edition. M22 A3 vol. 24 n° 19, 2004.
- MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985.
- Fukushima H, Gomyoda M. Growth of *Yersinia pseudotuberculosis* and *Yersinia enterocolitica* Biotype 3B Serotype O3 Inhibited on Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin Agar. J Clin Microbiol 1986, 24:116-120



**4240011 YERSINIA SELECTIVE SUPPLEMENT**

SDS

Förordning (EU) 2020/878

Blandning med farliga ingredienser: cefsulodinnatrium och novobiocin**Klassificering**

Ögonirritation, kategori 2	H319	Orsakar allvarlig ögonirritation.
Hudirritation, kategori 2	H315	Irriterar huden.
Luftvägssensibilisering, kategori 1	H334	Kan orsaka allergi- eller astmasymtom eller andningssvårigheter vid inandning.
Hudsensibilisering, kategori 1	H317	Kan orsaka allergisk hudreaktion.

Märkning

Faropiktogram



Signalord

Varning

Faroangivelser:

H319	Orsakar allvarlig ögonirritation.
H315	Irriterar huden.
H334	Kan orsaka allergi- eller astmasymtom eller andningssvårigheter vid inandning.
H317	Kan orsaka allergisk hudreaktion.

Skyddsangivelser:

P261	Undvik att inandas damm/rök/gaser/dimma/ångor/sprej.
P280	Använd skyddshandskar/ögonskydd/ansiktsskydd.
P342+P311	Vid besvär i luftvägarna: Kontakta GIFTINFORMATIONSCENTRALEN / läkare / . . .
P304+P340	VID INANDNING: Flytta personen till frisk luft och se till att andningen underlättas.
P333+P313	Vid hudirritation eller utslag: Sök läkarhjälp.
P337+P313	Vid bestående ögonirritation: Sök läkarhjälp.

401302 CIN AGAR BASE

SDS

Förordning (EU) 2020/878

Innehåller NATRIUMPYRUVAT

Klassificering:

Hudsensibilisering, kategori 1	H317	Kan orsaka allergisk hudreaktion.
--------------------------------	------	-----------------------------------

Märkning

Faropiktogram



Faroangivelser:

H317	Kan orsaka allergisk hudreaktion.
------	-----------------------------------

Skyddsangivelser:

P261	Undvik att inandas damm/rök/gaser/dimma/ångor/sprej.
P280	Använd skyddshandskar/ögonskydd/ansiktsskydd.
P333+P313	Vid hudirritation eller utslag: Sök läkarhjälp.
P362+P364	Nedstänkta kläder tas av och tvättas innan de används igen.





TABELL ÖVER TILLÄMPLIGA SYMBOLER

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

REVIDERINGSHISTORIK

Version	Beskrivning av ändringar	Datum
Revidering 1	Uppdaterad layout och innehåll	2020/09
Revidering 2	Uppdatering av "försiktighetsåtgärder och varningar" och "förvaringsförhållanden och hållbarhet".	2022/01
Revidering 3	Borttagning av föråldrad klassificering	2023/04
Revidering 4	Sätt in SDS-avsnittet	2025/09

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

