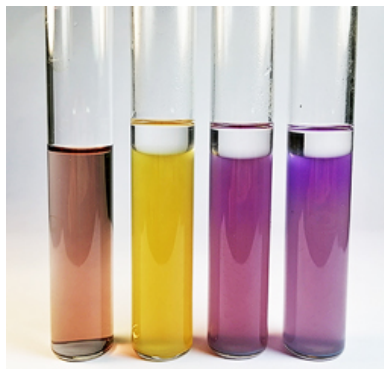




ANVÄNDNINGSSINSTRUKTIONER

DECARBOXYLASE MOELLER BASE BROTH

Dehydrerat odlingsmedium



Enterobacter aerogenes – från vänster:
oinokulerat rör, Moeller arginin (-), Moeller lysin (+), Moeller
ornithin (+)

1 – AVSEDD ANVÄNDNING

In vitro-diagnostik. Decarboxylase Moeller Base Broth hjälper, när den kompletteras med aminosyror, till att differentiera *Enterobacteriaceae* som isolerats från kliniska och andra prover.

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

Pepton	5,000 g
Nötköttextrakt	5,000 g
Pyridoxal	0,005 g
Glukos	0,500 g
Bromokresollila	0,010 g
Kresolrött	0,005 g

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

3 – METODENS PRINCIP OCH FÖRKLARING AV FÖRFARANDET

Decarboxylase Moeller Base Broth, som utarbetades av Moeller¹ 1955, är ett flytande medium till vilket aminosyror kan tillsättas för att utvärdera gramnegativa tarmbakteriers förmåga att decarboxylera dem genom bildning av aminer när odlingsmediets alkalinitet förändras.² De vanligaste aminosyrorna är L-lysin, L-ornitin och L-arginin. Arginin omvandlas först till citrullin med hjälp av enzymet dihydrolas, varvid en NH₂ grupp avlägsnas. Citrullin omvandlas sedan till ornitin och det senare decarboxyleras till putrescin.³ De aminer som bildas i dessa enzymatiska reaktioner ökar pH-värdet till alkalinitet, med en färgförändring av indikatorsystemet bromkresolviolett och kresolrött. Glukos som ingår i mediet fermenteras av *Enterobacteriaceae* och under de första timmarna av inkubationen bildas en sur miljö som är nödvändig för att enzymet decarboxylas ska fungera fullt ut. När det medium som innehåller aminosyror inokuleras med en glukosjäsande och decarboxylaspositiv stam blir det först gult för produktion av syror från glukosjäsning och sedan lila för produktion av aminer. Ett positivt test för decarboxylas indikeras därför av att det bildas en lila färg, medan ett negativt test indikeras av att det finns en gul färg. Pyridoxal är ett koenzym som aktiverar enzymet decarboxylas. Pepton och köttextrakt tillför kväve, kol och spårämnen som är nödvändiga för bakterietillväxt. Eftersom peptonerna kan oxideras och desamineras med produktion av ammoniak, är det nödvändigt att skapa anaeroba förhållanden för att utföra testet genom att täcka mediet med mineralolja för att undvika falskt positiva resultat. Tillsammans med provrör som innehåller aminosyror, inokulera ett provrör med basalt medium utan aminosyror: om det senare blir alkaliskt med bildning av lila färg är testet ogiltigt.²

Mediet är avsett för differentiering av *Enterobacteriaceae*-kolonier som isolerats från kliniska eller andra prover. Produktionen av ornitindecarboxylas är särskilt användbar för att skilja *Klebsiella* från *Enterobacter*: *Klebsiella* spp. är icke rörliga och producerar inte ornitindecarboxylas, medan de flesta *Enterobacter* spp. är rörliga och vanligtvis producerar enzymet.⁴

Positiva lysin-decarboxylasarter är *K.pneumoniae*, *K.oxytoca*, *E.aerogenes*, *S.marcescens*, *S.Typhi*, *E.tarda*, *M.morganii*, *V.cholerae*, *V.parahemolyticus*, *P.shigelloides*; de arter som bryter ner arginin är bland annat *E.cloacae*, *C.sakazakii*, *V.fluvialis*, *P.shigelloides*, *S.aureus*, *E.faecalis* och *E.faecium*.³

4 – ANVISNINGAR FÖR BEREDNING AV MEDIUM

Lös upp 10,5 g i 1 000 ml kallt renat vatten. Tillsätt 10 g av den valda aminosyran i L-form (slutlig koncentration 1 % w/v) eller 20 g/L av DL-form (slutlig koncentration 2 % w/v). Blanda väl och värm vid behov för att lösa upp den. Vid behov, särskilt när L-ornithin tillsätts, justera pH-värdet med 1N NaOH. Fördela 4–5 ml i rör med skruvkapsyl och sterilisera vid 121 °C i 15 minuter. Förbered även rör utan tillsats av aminosyror (kontrollrör).

5 – FYSISKA EGENSKAPER

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

vitaktigt, fint, homogent, fritt flytande pulver
violett, klar eller något opaliserande
6,0 ± 0,2 (efter tillsats av aminosyror)

6 – MEDFÖLJANDE MATERIAL – FÖRPACKNING

Produkt	Typ	REF	Förpackning
Decarboxylase Moeller Base Broth	Dehydrerat medium	4013662	500 g (47,6 L)

7 – MATERIAL SOM KRÄVS MEN INTE TILLHANDAHÅLLS

Autoklav, vattenbad, sterila mikrobiologiska slingor eller nålar, inkubator och nödvändig laboratorieutrustning, Erlenmeyer-kolvar, kompletterande odlingsmedier och reagenser (L-lysin, L-ornitin, L-arginin, mineralolja eller flytande paraffin).

8 – PROVER

Proverna består av bakteriestammar som isolerats från kliniska prover eller andra prover och som renats på lämpligt medium (t.ex. Tryptic Soy Agar eller Blood Agar).





9 – TESTFÖRFARANDE

Överför en koloni till röret med aminosyra med en inokulerande nål eller slinga och blanda väl. Ett rör med Decarboxylase Moeller Base Broth utan aminosyra ingår som kontroll och inokuleras med testorganismen.

Tillsätt 2 ml steril mineralolja (ca 1 cm) till alla de inokulerade rören, med och utan aminosyror, på ytan.

Inkubera rören, med lock på, vid 35–37 °C i upp till 4 dagar med daglig observation.

10 – AVLÄSNING OCH TOLKNING

Efter 18–24 timmar, 48 timmar, 72 timmar och 96 timmars inkubation, observera förekomsten av tillväxt (turbiditet) och färgförändringen i mediet.

Positiv reaktion: Mediet blir först gult på grund av fermentering av glukos och sedan lila på grund av bildning av aminer.

Negativ reaktion: Mediet är grumligt med en ljusgul färg (glukosjäsning).

Provrör utan aminosyror: Mediet är ljusgult (glukosjäsning); om detta provrör visar en lila färg är testet ogiltigt.

Följande tabell sammanfattar de reaktiva modellerna på Moeller Medium med tillsatta aminosyror.

Mikroorganism	Lysine	Ornithine	Arginine
<i>Escherichia coli</i>	+	var	var
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	+	+
<i>Enterobacter aerogenes</i>	+	+	-
<i>Edwardsiella tarda</i>	+	+	-
<i>Salmonella typhi</i>	+	-	var
<i>Citrobacter freundii</i>	-	var	var
<i>Proteus vulgaris</i>	-	-	-
<i>Proteus mirabilis</i>	-	+	-
<i>Shigella dysenteriae</i>	-	-	-
<i>Shigella sonnei</i>	-	+	-
<i>Serratia liquefaciens</i>	var	-	-
<i>Serratia marcescens</i>	+	+	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	+	-

+: positiv reaktion (alkalisk reaktion, lila färg); -: negativ reaktion (gul färg); var: variabel reaktion

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		ARGININ	LYSIN	ORNITHIN
<i>P.vulgaris</i> ATCC 9484	35–37 °C / 44–48 timmar /A	- (gul)	- (gul)	- (gul)
<i>S.Enteritidis</i> ATCC 13076	35–37 °C / 44–48 timmar /A	+ (lila)	+ (lila)	+ (lila)

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 urval av alla partier av dehydratiserad Decarboxylase Moeller Base Broth, kompletterad med L-lysin, L-ornitin och L-arginin, med avseende på specifika prestanda genom att resultaten jämförs med ett tidigare godkänt referensparti. Rena kulturer av följande stammar, som odlats i 18–24 timmar på Tryptic Soy Agar, inokuleras direkt i rören som är täckta med flytande paraffin: *P.vulgaris* ATCC 9484, *S.Typhimurium* ATCC 14028, *S.Enteritidis* ATCC 13076, *E.aerogenes* ATCC 13048, *S.flexneri* ATCC 12022, *K.pneumoniae* ATCC 27736, *S.marcescens* ATCC 8100. Rören inkuberas med slutna lock vid 35–37 °C i 44–48 timmar. Mediets färgförändringar observeras och registreras: för alla stammar och alla aminosyror överensstämmer decarboxylasreaktionerna med specifikationerna.

13 – METODENS BEGRÄNSNINGAR

- Icke-fermenterande bakterier fermenterar inte glukos under anaeroba förhållanden i testet. De dekarboxylerar dock aminosyran när mediet är täckt med mineralolja. Eftersom glukos inte fermenteras gör de inte mediet gult vid något tillfälle. På grund av dekarboxyleringen gör alkaliniteten röret djupt lila;³ detta kan kontrolleras genom att jämföra med ett inokulerat rör. Vissa icke-fermenterande stammar kan ge en fördröjd reaktion och en utebliven eller mycket svag färgförändring av mediet, och av denna anledning anses Möllers medium inte alltid vara tillfredsställande för icke-fermenterande glukosstammar.^{2,5}
- Lysin-dekarboxyleringstestet mäter inte mängden intracellulärt enzym, utan anger snarare om mängden aminer som produceras är tillräcklig för att höja pH-värdet i kulturmediet. Förändringar i tillväxtförhållandena (koncentrationer av glukos, lysin och andra aminosyror än lysin) kan avsevärt påverka aktiviteten hos enzymet lysindekarboxylas i koliforma bakterier.⁶
- Om rören hålls vertikalt under inkubationen kan testet med decarboxylas visa två lager med olika färger. Skaka röret försiktigt innan du försöker göra en tolkning.²
- Ibland kan det finnas problem med att tolka det positiva resultatet på grund av att det bildas en otydlig gullila färg. Om detta inträffar, jämför alltid med ett oypatriskt kontrollrör. Varje spår av lila färg efter minst 24 timmars inkubation måste tolkas som ett positivt test.²
- I vissa fall kan en otydlig färg eller till och med en missfärgning av mediet uppträda efter en särskilt långvarig inkubation på grund av att bromkresolpurpuren förstörs.² Denna missfärgning eller otydliga färg förekommer ofta hos *P.mirabilis* och *P.vulgaris*.¹
- *Salmonella* Gallinarum ger en fördröjd positiv ornitindekarboxyleringsreaktion som kräver 5–6 dagars inkubation på grund av bakteriens dåliga permeabilitet för aminosyran.²
- Många *E.coli*-stammar, inklusive adonitolfermenterande stammar, uppvisar en fördröjd ornitindekarboxyleringsreaktion.²
- Aminosyradekarboxylering är ett av de tester som krävs för att identifiera *Enterobacteriaceae*. Resultaten av dekarboxyleringstesterna måste tolkas tillsammans med andra tester för att stammarna ska kunna identifieras korrekt. Det rekommenderas därför 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.
- 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 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: inte inta, inandas eller låta det komma i 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 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 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

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 (rör/flaskor) och förvaringsmetod (temperatur och förpackning).

16 – REFERENSER

1. Moeller V. Simplified tests for some amino acid decarboxylases and for the arginine dihydrolase system. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1955; 36(2):158-72.
2. MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985.
3. Rao S. Amino acid metabolism tests. www.microrao.com
4. Farmer In Murray, Baron, Pfaller, Tenover and Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, DC. 1999
5. Barrow, G.I., Feltham R.K.A. Bacterial characters and characterization. Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria. 3rd ed. Cambridge: Cambridge University Press; 1999.
6. Piluscki RW, Clayton NW, Cabelli VJ, Cohen PS. Limitations of the Moeller Lysine and Ornithine Decarboxylase Tests. *App Environ Microbiol*. 1979; 37(2): 254-260.

401366 DECARBOXYLASE MOELLER BASE BROTH

SDS

Förordning (EU) 2020/878

Innehåller: CITRONSYRA

Klassificering: ingen

Märkning: ingen

Faroangivelser: EUH210 Säkerhetsdatablad finns att rekvirera.

TABELL ÖVER TILLÄMPLIGA SYMBOLER

REF Katalognummer	eller REF	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 2	Uppdaterad layout och innehåll	2020/06
Revidering 3	Uppdatering av "försiktighetsåtgärder och varningar" och "förvaringsförhållanden och hållbarhet"	2022/03
Revidering 4	Borttagning av föråldrad klassificering	2023/04
Revidering 5	Sätt in SDS-avsnittet som har lagts till	2025/05

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

