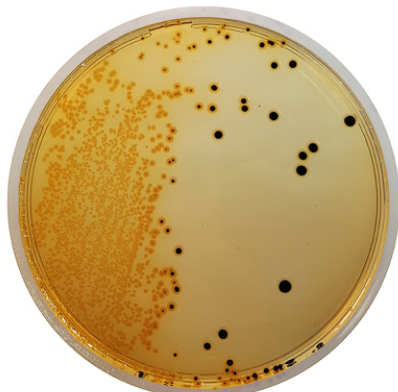




ANVÄNDNINGSSINSTRUKTIONER

DESOXYCHOLATE CITRATE AGAR

Dehydrerat odlingsmedium



pH Desoxycholate Citrate Agar

1 – AVSEDD ANVÄNDNING

In vitro-diagnostik. Selektivt och differentiellt medium för isolering av gramnegativa enteriska patogener, särskilt *Salmonella* och *Shigella*, från kliniska prover.

2 – TYPISK SAMMANSÄTTNING *

Pepton	5,00 g
Nötköttextrakt	5,00 g
Laktos	10,00 g
Natriumcitrat	5,00 g
Järnammونیumcitrat	1,00 g
Natriumdesoxikolat	2,0 g
Natriumtiosulfat	5,00 g
Neutralrött	0,03 g
Agar	15,00 g

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

3 – METODENS PRINCIP OCH FÖRKLARING AV FÖRFARANDET

Desoxycholate Citrate Agar, framställd på basis av en modifiering av den formel som beskrivs av Leifson¹ 1935, är avsedd för isolering och differentiering av gramnegativa enteriska patogener (*Salmonella* och *Shigella*) från fekalprover.

Flera formler har föreslagits, baserade på de ursprungliga medierna från Leifson¹, Haynes², Hajna och Damon³ med olika koncentrationer av natriumcitrat, järncitrat eller järnammونیumcitrat och natriumdesoxikolat, närvaro eller frånvaro av sackaros och natriumtiosulfat, samt något olika koncentrationer av neutralt rött. Desoxikolatcitratagar (Leifson) har mer selektiva egenskaper än Desoxycholate Agar (REF 401370) och är mindre selektivt än Haynes medium.⁴

Pepton och nötköttextrakt tillför kol, kväve och spårämnen för bakterietillväxt. Medlets selektivitet beror på förekomsten av natriumdesoxikolat, natriumcitrat och järncitrat, som möjliggör god tillväxt av gramnegativa bakterier, en partiell hämning av koliforma bakterier och en total hämning av grampositiva bakterier. Laktos ingår som en fermenterbar kolhydrat, neutralrött som pH-indikator; bakterier som inte fermenterar laktos (inklusive enteriska patogener *Salmonella* och *Shigella*) försura inte mediet och odlas med färglösa kolonier. De koliforma stammarna, som kan växa i närvaro av selektiva föreningar, fermenterar laktos och producerar en förurningsprocess i mediet runt kolonierna, utfällning av natriumdesoxikolat och utveckling av en röd färg. *Salmonella* spp. producerar tiosulfatreduktas som orsakar frisättning av en sulfidmolekyl från natriumtiosulfatet som finns i mediet. Denna sulfidmolekyl kopplas ihop med en vätejon och bildar H₂S-gas som reagerar med järncitratet och bildar en fällning, vilket resulterar i kolonier som är svarta eller har en svart mitt.

4 – ANVISNINGAR FÖR BEREDNING AV MEDIUM

Lös upp 48,5 g i 1 000 ml kallt renat vatten. Värm till kokpunkt under frekvent omrörning för att lösa upp helt. Kyl till 47–50 °C, blanda väl och håll i sterila petriskålar. Sterilisera inte i autoklav och överhetta inte.

5 – FYSISKA EGENSKAPER

Utseende på dehydratiserat medium	rosa, fint, homogent, fritt flytande pulver
Mediets utseende	röd, klar
Slutligt pH vid 20–25 °C	7,3 ± 0,2

6 – MEDFÖLJANDE MATERIAL – FÖRPACKNING

Produkt	Typ	REF	Förpackning
Desoxycholate Citrate Agar	Dehydrerat medium	4013752	500 g (10,3 L)

7 – MATERIAL SOM KRÄVS MEN INTE TILLHANDAHÅLLS

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

8 – PROVER

Desoxycholate Citrate Agar är avsett för bakteriologisk bearbetning av kliniska prover såsom avföring och rektalpinne. God laboratoriesed för insamling, transport och förvaring av kliniska prover bör tillämpas.

9 – TESTFÖRFARANDE

Låt plattorna anta rumstemperatur och låt ytan på mediet torka.

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 bomullsspinnen över ett litet område på ytan vid kanten; stryk sedan från detta inokulerade område.

Maximal återvinning av *Salmonella* från fekalprover uppnås genom att använda anrikningssteget i Selenite Broth följt av subkultur på Desoxycholate Citrate Agar och på ett andra plattmedium.⁵

För isolering av *Shigella* från fekalprover rekommenderas anrikning i GN-buljong, följt av subkultur i två olika selektiva medier: Desoxycholate Citrate Agar och ett andra mindre selektivt medium (t.ex. MacConkey Agar).⁵





Inkubera inokulerade Desoxycholate Citrate Agar-plattor med provet eller med provet anrikat i flytande medium, under aeroba förhållanden vid 35–37 °C i 18–24 timmar. Om det inte förekommer någon mikrobiell tillväxt eller om det råder tvivel vid avläsningen av den svarta koloniens centrum, inkubera i ytterligare 18–24 timmar.

10 – AVLÄSNING OCH TOLKNING

Efter inkubation observerar du bakterietillväxten och noterar de specifika morfologiska och kromatiska egenskaperna hos isolerade kolonier. Laktosfermenterande gramnegativa tarmbakterier: färglösa kolonier med eller utan svart centrum. *Salmonella*-kolonier har i allmänhet ett ljusare svart centrum, medan *Shigella*-kolonier inte har något svart centrum.

Laktosfermenterande gramnegativa tarmbakterier (koliforma bakterier): röda kolonier som ibland omges av en rödrosa ogenomskinlig zon.

11 – ANVÄNDARENS KVALITETSKONTROLL

Alla tillverkade partier av produkterna släpps för försäljning efter att kvalitetskontrollen har utförts för att kontrollera att specifikationerna uppfylls. Slutanvändaren 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
<i>S.Typhimurium</i>	ATCC	14028	35–37 °C / 18–24 timmar / A	tillväxt, röda kolonier med ljus svart mitt
<i>S.flexneri</i>	ATCC	12022	35–37 °C / 18–24 timmar / A	tillväxt, färglösa kolonier
<i>E.faecalis</i>	ATCC	29212	35–37 °C / 18–24 timmar / A	hämmad
<i>E.coli</i>	ATCC	25922	35–37 °C / 18–24 timmar / A	delvis hämmad, röda kolonier

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 prov av alla partier av dehydratiserad Desoxycholate Citrate Agar med avseende på produktivitet och selektivitet genom att resultaten jämförs med ett tidigare godkänt referensparti.

Produktiviteten testas med semikvantitativ ekometrisk teknik genom inkubation vid 35–37 °C i 18–24 timmar med 4 målstammar: *S.Enteritidis* NCTC 5188, *S.Typhimurium* ATCC 14028, *S.Gallinarum* clinical isolate, *S.flexneri* ATCC 12022, *S.sonnei* ATCC 9290, *S.boydii* ATCC 9207. *Salmonella*-kolonier är färglösa med ljus svart mitt, *Shigella*-kolonier är färglösa; mängden tillväxt på plattorna utvärderas och ska vara jämförbar i båda satserna.

Selektiviteten utvärderas med modifierad Miles-Misra-ytdroppmetod genom att inokulera plattorna med lämpliga decimala utspädningar i saltlösning av en 0,5 McFarland-suspension av de icke-målgrampositiva stammarna *E.faecalis* ATCC 19433 och *S.aureus* ATCC 25923 och icke-målgramnegativa *P.mirabilis* ATCC 10005, och *E.coli* ATCC 25922. Tillväxten av Gram-positiva stammar hämmas helt, tillväxten av icke-målstammar av Gram-negativa bakterier hämmas delvis och kolonierna uppvisar typiska kromatiska egenskaper, enligt specifikationerna.

13 – METODENS BEGRÄNSNINGAR

- Om pH höjs över 7,5 kan många grampositiva bakterier uppvisa tillväxt.⁴
- Vid överhettning kan hämningen öka och agarens geleringsförmåga minska på grund av hydrolys av järncitrat och natriumcitrat.^{1,4}
- Det rekommenderas att använda nyberett medium.⁴
- Smält inte om mediet efter att det har beretts, eftersom detta kan minska dess produktivitetskaraktäristika gentemot målstammar.⁶
- Ett enda medium är sällan tillräckligt för att återvinna alla patogener som finns i ett prov. Därför bör ytterligare medier för isolering av *Salmonella* och/eller *Shigella* användas, med lägre selektivitet såsom Mac Conkey Agar eller Levine EMB Blue Agar och med högre selektivitet såsom SS Agar eller, om *S.Typhi* misstänks, Bismurh Sulphite Agar. Andra medier för isolering av andra enteriska patogener bör inokuleras med provet.⁵
- Icke-enteriska, laktosfermenterande organismer såsom *Pseudomonas* och *Aeromonas* kan växa.
- Ytkolonier av laktosfermenterande bakterier absorberar ofta lite färg (rosa) från mediet och organismerna kan misstas för koliforma bakterier.⁴
- Vissa stammar av *Proteus* spp. kanske inte hämmas helt och kolonierna kan likna *Salmonella*. Det rekommenderas att screena kolonierna genom att tillsätta en droppe MUCAP-reagens (REF 191500) och efter 3 till 5 minuter observera om det utvecklas fluorescens under Woods lampa, vilket uppstår i närvaro av C₈ esterenzymet, som är typiskt för *Salmonella* spp.⁷
- 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.
- 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: 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 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 djuriska 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 (plattor/rör/flaskor) och förvaringsmetod (temperatur och förpackning).

16 – REFERENSER

- Leifson E. New culture media based on sodium desoxycholate for the isolation of intestinal pathogens and for the enumeration of colon bacilli in milk and water. J Pathol Bacteriol 1935; 40: 581-599.
- Hynes M. The isolation of intestinal pathogens. J Pathol Bacteriol 1942; 54:193-207.
- Hajna AA, Damon SR, New enrichment and plating medium for the isolation of Salmonella and Shigella organisms. App Microbiol. 1956; 4:341.
- MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985.
- Strockbine NA, Bopp CA, Fields PI, Kaper JB, Nataro JP. Escherichia, Shigella and Salmonella. In Jorgensen JH, Carrol KC, Funke G et al. editors. Manual of clinical microbiology, 11th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2015. p.685.
- Liang C, Fung DY. Performance of Some Heat-Sensitive Differential Agars Prepared and Melted by Microwave Energy. J Food Prot. 1988 Jul; 51(7):577-578.
- Ruiz J, Sempere MA, Varela C, Gomez J. Modification of the methodology of stool culture for Salmonella detection, J Clin Microbiol 1992; 30:525-526.

401375 DESOXYCHOLATE CITRATE AGAR

SDS

Förordning (EU) 2020/878

Innehåller: NATRIUMDEOKSYKOLAT
JÄRN III AMMONIUMRED CITRAT
Klassificering: ingen
Märkning ingen
Faroangivelser: EUH210 Säkerhetsdatablad finns att rekvirera.

TABELL ÖVER TILLÄMPLIGA SYMBOLER

REF eller REF Katalognummer	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 1	Uppdaterad layout och innehåll	2020/05
Revidering 2	Uppdatering av "försiktighetsåtgärder och varningar" och "förvaringsförhållanden och hållbarhet"	2022/03
Revidering 3	Borttagning av föråldrad klassificering	2023/04
Revidering 4	Sätt in SDS-avsnittet	2025/05

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

