

**ANVÄNDNINGSPROSEDURER****NUTRIENT AGAR****Dehydrerat odlingsmedium***Salmonella Typhimurium* på Nutrient Agar**1 – AVSEDD ANVÄNDNING**

In vitro-diagnostik. Allmänt medium för odling, subkultur och rening av kolonier av icke-krävande mikroorganismer, isolerade från kliniska och icke-kliniska prover.

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

Nötköttextrakt	3 g
Pepton	5 g
Agar	15 g

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

3 – METODENS PRINCIP OCH FÖRKLARING AV FÖRFARANDET

Nutrient Agar är ett odlingsmedium baserat på köttpeptoner som används för odling av icke-krävande mikroorganismer. Peptonerna tillför kol, kväve och vitaminer för tillväxt av de flesta icke-krävande mikroorganismer (t.ex. enterobakterier, stafylokocker). Avsaknaden av natriumklorid begränsar spridningen av *Proteus* spp. Nutrient Agar sammansättning överensstämmer med rekommendationerna i ISO 6579¹ och ISO 10273². Nutrient Agar var ett av de första medierna som användes inom mikrobiologin och kan fortfarande användas för undersökning av vatten och livsmedel, för beredning av stamkulturer, för preliminär odling av ett prov som genomgår successiva bakteriologiska undersökningar och för isolering av mikroorganismer i ren odling.

4 – ANVISNINGAR FÖR BEREDNING AV MEDIUM

Lös upp 23 g i 1 000 ml kallt renat vatten. Värm till kokpunkt under frekvent omrörning, fördela och sterilisera genom autoklavering vid 121 °C i 15 minuter.

5 – FYSISKA EGENSKAPER

Utseende på dehydratiskt medium

vitaktigt, fint, homogent, fritt flytande pulver

Utseende på lösning och beredda plattor

mycket blekgult, klart

Slutligt pH vid 20–25 °C

7,0 ± 0,2

6 – MEDFÖLJANDE MATERIAL – FÖRPACKNING

Produkt	Typ	REF	Förpackning
Nutrient Agar	Dehydrerat medium	4018102	500 g (21,7 L)
		4018104	5 kg (217 L)

7 – MATERIAL SOM KRÄVS MEN INTE TILLHANDAHÅLLS

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

8 – PROVER

I allmänhet används näringsagar för subkultur av mikroorganismer som isolerats på andra odlingsmedier och används inte för direkt inokulering av kliniska prover.

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. Inkubera rutinmässigt vid 35–37 °C under aeroba förhållanden i 18–24 timmar.

Användaren ansvarar för att välja lämplig inkubationstid, temperatur och atmosfär beroende på de organismer som ska odlas och de lokala tillämpliga protokollen.

10 – AVLÄSNING OCH TOLKNING

Förekomsten av mikroorganismer indikeras av uppkomsten av kolonier med olika morfologi och storlek. Tillväxtens egenskaper är nära relaterade till den eller de typer av mikroorganismer som odlas.

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
S.Typhimurium	ATCC	14028	35–37 °C / 18–24 timmar / A		
E.coli	ATCC	25922	35–37 °C / 18–24 timmar / A		god tillväxt
Y.enterocolitica	ATCC	23715	29–31 °C / 18–24 timmar / A		god tillväxt

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 från alla partier av dehydrerad näringsagar för produktivitet genom att jämföra resultaten med ett tidigare godkänt referensparti.

Produktiviteten testas med en kvantitativ metod med målstammarna *E.coli* ATCC 25922, *S.Typhimurium* ATCC 14028, *Y.enterocolitica* ATCC 23715. Näringsagarplattor inokuleras med decimala utspädningar i saltlösning av koloniernas suspensioner och inkuberas vid 35–37 °C (*E.coli*, *S.Typhimurium*) och vid 29–31 °C (*Y.enterocolitica*) i 18–24 timmar. Kolonierna räknas på testbatchen (TB) och referensbatchen (RB) och produktivitetsförhållandet ($Pr = CFU_{TB}/CFU_{RB}$) beräknas. Om Pr är $\geq 0,7$ anses resultaten vara godtagbara och överensstämmer med specifikationerna.

Produktiviteten testas också med en semikvantitativ ekometrisk teknik med *E.faecalis* ATCC 19433 och *S.aureus* ATCC 25923. Efter inkubation vid 35–37 °C i 18–24 timmar utvärderas och registreras tillväxtmängden. Alla stammar visar god tillväxt, jämförbar med referensbatchen.

13 – METODENS BEGRÄNSNINGAR

- Inom klinisk mikrobiologi är detta odlingsmedium 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.
- Det rekommenderas att biokemiska, immunologiska, molekylära eller masspektrometriska tester utförs på isolat från ren odling för fullständig identifiering. Om relevant, utför antimikrobiell känslighetstestning.

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 kontroller 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 oanvänt medium och inokulerade plattor med prover eller mikrobiella stammar i enlighet med gällande lokal lagstiftning.
- Använd inte odlingsmediet 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

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).

Enligt MacFaddin kan de självberedda plattorna förvaras vid +2 °C / +8 °C i upp till 6–8 veckor, medan medierna i rör och flaskor kan förvaras vid +2 °C / +8 °C i upp till 6 månader.³

16 – REFERENSER

- ISO 6579-1:2017 Microbiology of the food chain -- Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella -- Part 1: Detection of Salmonella spp.
- ISO 10273:2017 Microbiology of the food chain -- Horizontal method for the detection of pathogenic Yersinia enterocolitica.
- MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985.

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	2020/06
Revidering 2	Uppdatering av "försiktighetsåtgärder och varningar" och "förvaringsförhållanden och hållbarhet"	2022/05
Revidering 3	Uppdatering av kapitel 1, 11, 14, 15, 16	2023/03

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

