

**ANVÄNDNINGSANVISNING****YERSINIA SELECTIVE SUPPLEMENT****Frystorkat selektivt tillskott****1 - AVSEDD ANVÄNDNING**

In vitro-diagnostik. Blandning av antimikrobiella medel som ska tillsättas CIN Agar Base för isolering och karakterisering av *Y. enterocolitica* från kliniska och andra prover.

2 – SAMMANSÄTTNING – INNEHÅLL I FLASKA FÖR 500 ML MEDIUM

Cefsulodin	7,50 mg
Novobiocin	1,25 mg

3 - METODENS PRINCIP OCH FÖRKLARING AV FÖRFARANDET

Yersinia Selective Supplement är en frystorkad blandning av antimikrobiella medel som används som tillägg till CIN Agar Base för isolering och karakterisering av *Y. enterocolitica*.

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

Grampositiva och vissa gramnegativa bakterier (t.ex. *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa*) hämmas av de selektiva ämnena som finns i mediets bas (natriumdeoxikolat, kristallviolett, irgasan) och i det frystorkade tillskottet (cefsulodin och novobiocin).

4- ANVISNINGAR

Rekonstituera innehållet i en ampull aseptiskt med 5 ml sterilt renat vatten och blanda försiktigt för att lösa upp.

Bered 500 ml CIN-agarbas (REF 401302), autoklavera och kyl till 47–50 °C och tillsätt innehållet i en flaska Yersinia Selective Supplement under aseptiska förhållanden. Blanda väl och fördela i sterila petriskålar.

5 - FYSISKA EGENSKAPER

Frystorkat tillskottets utseende	kort, kompakt, vit pastill
Utseende på rekonstituerat tillskott	klart, färglöst

6 - MEDFÖLJANDE MATERIAL – FÖRPACKNING

Produkt	Typ	REF	Förpackning
Yersinia Selective Supplement	Frystorkat tillskott	4240011	10 ampuller, vardera för 500 ml medium

7 - MATERIAL SOM KRÄVS MEN INTE MEDFÖLJER

CIN Agar Base (REF 401302), autoklav, vattenbad, inkubator och laboratorieutrustning efter behov, sterila öglor och svabb, petriskålar, Erlenmeyerkolvar, kompletterande odlingsmedier och reagenser för identifiering av kolonierna.

8 - PROVER

CIN Agar Base med Yersinia Selective Supplements är avsedd för bakteriologisk bearbetning av kliniska prover såsom avföring och rektala svabbprover^{2,3} och icke-kliniska prover såsom livsmedel och djurfoder^{4,5}. God laboratorieledning för insamling, transport och förvaring av kliniska prover bör tillämpas. 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 nå rumstemperatur och låt ytan på mediet torka.

Kliniska prover

Inokulera och sträck provet med en ögla över plattans fyra kvadranter för att få väl isolerade kolonier, och se till att sektionerna 1 och 4 inte överlappar varandra. Alternativt, om materialet odlas direkt från en svabb, rulla svabben över ett litet område av ytan vid kanten och sträck sedan från detta inokulerade område.

Avföring kan spädas ut 1:4 i steril saltlösning eller 0,1 % peptonvatten. Det har visat sig att utspädning avsevärt minskar mängden konkurrerande flora utan att isoleringen av låga antal patogener påverkas.³

Inkubera aerobt vid 28–30 °C i 24–48 timmar.³

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. kromogen Yersinia-agar)***

Anmärkning

* Yersinia PSB-buljong (REF 402270). ** Yersinia ITC-buljongbas REF 402265 tillsatt med kaliumkloratillskott (REF 4240065) och ticarcilin Irgasan antimikrobiellt tillskott (REF 4240060). *** Kromogen Yersinia-agarbas (REF 408050) tillsatt med kromogent Yersinia-tillsatsmedel (REF 4240095).

10 – AVLÄSNING OCH TOLKNING

Efter inkubation observeras bakterietillväxten och de specifika morfologiska och kromatiska egenskaperna hos kolonierna registreras.

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 – KVALITETSKONTROLL FÖR ANVÄNDAREN

Alla tillverkade partier av produkten släpps ut för försäljning efter att kvalitetskontroll 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	tillväxt 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 tillhör American Type Culture Collection

12 - PRESTANDAEGENSKAPER

Innan produkten släpps ut på marknaden testas ett representativt prov av alla partier av Yersinia Selective Supplement som tillsatts dehydrerad CIN Agar Base med avseende på produktivitet och selektivitet genom att resultaten jämförs med tidigare godkända referenspartier.

Produktiviteten testas genom ett kvantitativt test med målstammarna *Y. enterocolitica* ATCC 23715 och; plattor 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 produktivitetsförhållandet ($Pr = CFU_{TB} / CFU_{RB}$) 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. Produktiviteten testas också med ekometrisk metod med *Y. enterocolitica* DSM 13030 och *Y. enterocolitica* ATCC 9610. 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 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853 *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 29212. *S. marcescens* hämmas delvis, medan tillväxten av andra icke-målstammar hämmas helt.

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 otydlig eller saknas.⁴
- Y. intermedia*, *Y. frederiksenii* och *Y. kristensenii* växer lika bra som *Y. enterocolitica* på CIN-agar och uppvisar samma kolonimorfologi.⁶
- Serratia*, *Enterobacter* och *Citrobacter* hämmas dåligt. *Serratia* och *Enterobacter* utvecklar upphöjda och slemlika 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.⁶
- De flesta *Y. pseudotuberculosis*-stammar hämmas av en koncentration på 15 mg/l cefsulodin.⁷
- Vissa stammar av *Y. enterocolitica* serovar O3 växer inte på CIN-agar.⁷
- Även om mikroorganismkolonierna på plattorna differentieras på basis av deras morfologiska och kromatiska egenskaper, rekommenderas det att biokemiska, immunologiska, molekylära eller masspektrometriska tester utförs på isolat från ren odling för fullständig identifiering. Om relevant, utför antimikrobiell känslighetstestning.
- Odlingsmediet och tillskottet 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

- Tillsatsen är en kvalitativ *in vitro*-diagnostik, endast avsedd för professionellt bruk. Den måste användas av adekvat utbildad och kvalificerad laboratoriepersonal, som iakttar godkända försiktighetsåtgärder mot biologiska risker och aseptiska tekniker.
- Antibiotikahaltiga tillägg måste hanteras med lämpligt skydd; konsultera säkerhetsdatabladet före användning.
- Tillsatsen och mediet ska användas tillsammans enligt anvisningarna ovan.
- Tillämpa god tillverkningsmetod vid beredningen av pläterade medier.
- Tillsatsen steriliseras genom membranfiltrering.
- Var försiktig när du öppnar metallringen för att undvika skador.
- Alla laboratorieprover ska betraktas som smittsamma.
- Laboratorieområdet måste kontrolleras för att undvika föroreningar såsom mediumpulver och tillskott eller mikrobiella agens.
- Sterilisera allt biologiskt farligt avfall före bortskaffande. Kassera oanvända tillskott och steriliserade medier som inokulerats med prover eller mikrobiella stammar i enlighet med gällande lokal lagstiftning.
- Använd inte tillskottet som aktiva ingredienser 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 sammanställts efter bästa kunskap och förmåga och utgör en riktlinje för korrekt användning av produkten, men utan skyldighet eller ansvar. I alla fall måste gällande lokala lagar, förordningar och standardförfaranden följas vid undersökning av prover som samlats in från mänskliga och djuriska organiska distrikt, för miljöprover och för produkter avsedda för konsumtion av människor eller djur. Vår information befriar inte våra kunder från deras ansvar att kontrollera att vår produkt är lämplig för det avsedda ändamålet.

15 – FÖRVARINGSFÖRHÅLLANDEN OCH HÅLLBARHET

Vid mottagandet ska produkten förvaras i originalförpackningen vid 2–8 °C och skyddas från direkt ljus. Om produkten förvaras på rätt sätt kan den användas fram till det utgångsdatum 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. Innan användning ska den frystorkade och rekonstituerade produkt en undersökas och kasseras om det finns tydliga tecken på försämring (t.ex. kontaminering, atypisk färg eller andra onormala egenskaper).





Användaren ansvarar för tillverknings- och kvalitetskontrollprocesserna för odlingsmedier och valideringen av deras hållbarhetstid, i enlighet med de tillämpade förvaringsförhållandena (temperatur och förpackning).

16 - REFERENSER

1. Schiemann D A. Synthesis of a selective agar medium for *Yersinia enterocolitica*. Can J Microbiol 1979; 25(11):1298-1304.
2. Petersen MJ, Gladney LM, Schriefer 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
3. Public Health England. Investigations of Faecal Specimens for Enteric Pathogens. UK Standards for Microbiology Investigations. 2014. B 30 Issue 8.1.
4. ISO 10273:2017 Microbiology of the food chain -- Horizontal method for the detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica*
5. U.S. Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual (BAM) Chapter 8: *Yersinia enterocolitica*. Rev 10/2017
6. MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985.
7. 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

Klass

Ögonirritation, kategori 2	H319	Orsakar allvarlig ögonirritation.
Hudirritation, kategori 2	H315	Orsakar hudirritation.
Andningssensibilisering, kategori 1 svårigheter vid inandning.	H334	Kan orsaka allergiska eller astmatiska symptom eller andningssvårigheter
Känsliggörande för huden, kategori 1	H317	Kan orsaka allergisk hudreaktion.

Märkning

Piktogram



Signalord

Varning

Faroklassificering

H319

Orsakar allvarlig ögonirritation.

H315

Orsakar hudirritation.

H334

Kan orsaka allergiska eller astmatiska symptom eller andningssvårigheter vid inandning.

H317

Kan orsaka allergisk hudreaktion.

Försiktighetsåtgärder:

P261	Undvik inandning av damm/rök/gas/dimma/ångor/spray.
P280	Använd skyddshandskar/ögonskydd/ansiktsskydd.
P342+P311	Vid andningsbesvär: Ring GIFTINFORMATIONSCENTRALEN / läkare / . . .
P304+P340	VID INANDNING: Flytta personen till frisk luft och se till att hen kan andas bekvämt.
P333+P313	Vid hudirritation eller utslag: Sök läkarhjälp.
P337+P313	Vid ihållande ögonirritation: Sök läkarhjälp.

TABELL ÖVER TILLÄMPLIGA SYMBOLER

REF eller REF Katalognummer	LOT Batchkod	IVD <i>In vitro</i> -diagnostisk medicinteknisk . . .	Tillverkare	Den här sida	
Temperaturbegränsning	Innehåll som räcker till <n> tester	Se bruksanvisningen	Använd före	Förvaras skyddat från direkt ljus	Omtåligt

REVISIONSHISTORIK

Version	Beskrivning av ändringar	Datum
Revision 1	Uppdaterad layout och innehåll	2022/01
Revision 2	Borttagande av föråldrad klassificering	2023/04

Obs: mindre typografiska, grammatiska och formateringsändringar ingår inte i revisionshistoriken.

