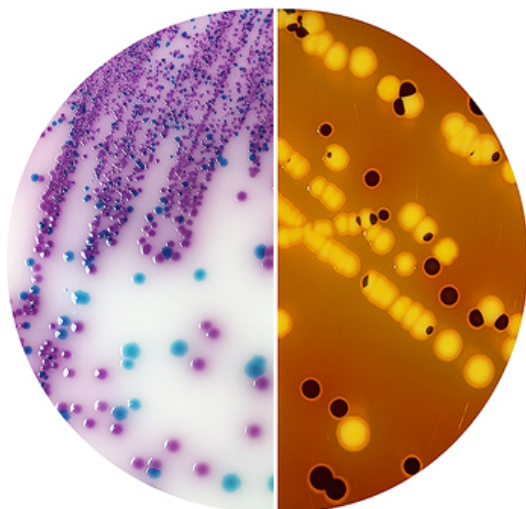




ANVÄNDNINGSSINSTRUKTIONER

BIOSECTOR CHROMOGENIC SALMONELLA AGAR XLD AGAR

Färdiga dubbelplattor



Salmonella sp. (magentaröd på CSA och svart på XLD) och *E.aerogenes* (grön på CSA och gul på XLD).

1 – AVSEDD ANVÄNDNING

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

2 – TYPISK SAMMANSÄTTNING**KROMOGEN SALMONELLA-AGAR***

Peptoner	10,0 g	Emulgeringsmedel	11,4 g
Selektiva föreningar	12,0 g	Opacifieringsmedel	10,0 g
Cefsulodin	5,0 mg	Agar 15,0 g	
Kromogen blandning	0,9 g	Renat vatten	

XLD AGAR*

Xylos	3,50 g	Natriumdesoxikolat	2,50 g
L-lysin	5,00 g	Natriumtiosulfat	6,80 g
Laktos	7,50 g	Järnammoniumcitrat	0,80 g
Sackaros	7,50 g	Fenolrött	0,08 g
Natriumklorid	5,00 g	Agar	13,50 g
Jästextrakt	3,00 g	Renat vatten	1 000 ml

*Formeln kan justeras och/eller kompletteras för att uppnå de erforderliga prestationskriterierna.

3 – METODENS PRINCIP OCH FÖRKLARING AV FÖRFARANDET

Bi-plattan med kromogen salmonellaagar och XLD-agar odlingsmedium är indicerad inom klinisk och industriell mikrobiologi när bestämning av *Salmonella* spp. (inklusive *S.typhi* och *Salmonella lac* + stammar) och *Shigella* spp krävs.

KROMOGEN SALMONELLA-AGAR

Kromogen salmonellaagar är ett selektivt och diagnostiskt medium som är användbart för isolering av *Salmonella* spp. från kliniska och icke-kliniska prover och för preliminär identifiering av kolonierna. Kromogen salmonellaagar ingår i ISTISAN-rapporten¹ i utbudet av plattmedier för detektion av *Salmonella* spp. och kromogena medier ingår som det andra plattmediet i ISO-standarderna för detektion av *Salmonella* i livsmedel och vatten.^{2,3}

Peptoner tillhandahåller kol, kväve, vitaminer och spårämnen för bakterietillväxt. De selektiva föreningarna som ingår i mediet är följande: cefsulodin, ett tredje generationens cefalosporin antibiotikum som har mycket specifik aktivitet mot *P.aeruginosa* och *S.aureus*, natriumdesoxikolat som hämmar tillväxten av grampositiva och vissa gramnegativa bakterier samt Tergitol 4, som främst är aktivt mot tillväxten av *Proteus* spp.

Differentiering av *Salmonella* från andra organismer som växer uppnås genom:

- ett kromogen substrat för C₈ esterasenzym, som delas av *Salmonella* spp. med frisättning av en olöslig magentaröd kromofor.
- ett kromogen glukopyranosidderivat som delas av β-glukosidas med frisättning av en olöslig blågrön kromofor.

Vissa *Enterobacteriaceae*, inklusive *Klebsiella* och *Enterobacter*, men inte *Salmonella*, är β-glukosidaspositiva och bildar vid tillväxt blågröna eller mörkblå kolonier, även om de är esteraspositiva, vilket gör dem lätta att skilja från magentaröda *Salmonella*-kolonier. De kromogena och selektiva föreningarna i mediet möjliggör också detektion av de sällsynta laktospositiva *Salmonella*-stammarna, som missas på traditionella medier baserade på laktosfermentering. Kromogen Salmonella-agar är också användbar för detektion av *S.Typhi* och *S.Paratyphi*. De färdiga plattorna innehåller en förening som ger mediet en vit, ogenomskinlig bakgrund och förstärker koloniernas färg.

XLD AGAR

XLD-agar är ett selektivt och differentiellt medium avsett för isolering av gramnegativa enteriska patogener, särskilt *Salmonella* och *Shigella*, från kliniska prover.⁴⁻⁶ Det rekommenderas för detektion av *Salmonella* i icke-sterila farmaceutiska produkter enligt harmoniserad EP-, USP- och JP-metod⁷ och av FDA-BAM för detektion av *Salmonella* i livsmedel⁸.

Jästextrakt tillför kol, kväve, vitaminer och spårämnen för bakterietillväxt; natriumklorid upprätthåller den osmotiska balansen i mediet; natriumdesoxikolat är ett selektivt medel för att hämma tillväxten av grampositiva bakterier. XLD-agar innehåller tre indikatorsystem: xylos, laktos och sackaros i kombination med fenolrött, lysinhydroklorid och återigen fenolrött, natriumtiosulfat och järnammoniumcitrat. Målbakterierna grupperas preliminärt genom att man avläser effekten av kolhydratfermentering, lysindekarboxylering och bildning av vätesulfid.

4 – FYSISKA EGENSKAPER**KROMOGEN SALMONELLA-AGAR**

Mediets utseende	vitaktig, ogenomskinlig
Slutligt pH vid 20–25 °C	7,2 ± 0,2

XLD AGAR

Mediets utseende	röd, klar
Slutligt pH vid 20–25 °C	7,4 ± 0,2



**5 – MEDFÖLJANDE MATERIAL – FÖRPACKNING**

Produkt	Typ	REF	Förpackning
Biosector Chromogenic Salmonella Agar / XLD Agar	Färdiga dubbelplattor	495351	2 x 10 plattor ø 90 mm med 2 sektorer Primär förpackning: 2 cellofanpåsar Sekundär förpackning: kartong

6 – MATERIAL SOM KRÄVS MEN INTE TILLHANDAHÅLLS

Sterila öglo och svabbprover, inkubator och laboratorieutrustning efter behov, kompletterande odlingsmedier och reagenser för identifiering av kolonierna.

7 – PROVER

Biosector Chromogenic Salmonella Agar / XLD Agar är avsedd för bakteriologisk bearbetning av kliniska prover såsom avföring, rektalpinne, urin, galla,⁴⁻⁶ och icke-kliniska prover såsom icke-sterila läkemedel⁷ och livsmedel^{2,3,8}. Samla in prover före antimikrobiell behandling om möjligt. God laboratorieledning för insamling, transport och förvaring av kliniska prover bör tillämpas.⁹ Konsultera lämpliga standardmetoder för detaljer om insamling och beredning av icke-kliniska prover.^{2,3,7,8}

8 – TESTFÖRFARANDE

Låt plattorna anta rumstemperatur och låt ytan på mediet torka.

Inokulera och stryk ut provet med en ögla över mediets yta för att få väl isolerade kolonier. 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 fekala prover uppnås genom att använda ett anrikningssteg i selenitbuljong.⁶ För isolering av *Shigella* från fekala prover rekommenderas anrikning i GN-buljong.⁶

Inkubera inokulerade bi-plattor med provet eller med ett prov som berikats i flytande medium under aeroba förhållanden vid 35–37 °C i 18–24 timmar. Konsultera lämpliga referenser för detektion av *Shigella* och *Salmonella* i icke-kliniska prover.^{2,3,7,8}

9 – AVLÄSNING OCH TOLKNING

Efter inkubation observerar du bakterietillväxten och noterar de specifika morfologiska och kromatiska egenskaperna hos isolerade kolonier. De olika mikroorganismerna växer på kromogen salmonellaagar med följande egenskaper:

Mikroorganism	Tillväxtkaraktistika
<i>Salmonella</i> spp.	god tillväxt, magentaröda kolonier
<i>Salmonella</i> spp. lac+	god tillväxt, magentaröda kolonier
<i>Salmonella</i> Typhi	god tillväxt, magentaröda kolonier
<i>E.coli</i>	dålig tillväxt med färglösa kolonier
<i>Enterobacter</i> spp.	tillväxt med blågröna kolonier
<i>Klebsiella</i> spp.	dålig tillväxt med blågröna kolonier
<i>Pseudomonas</i> spp.	hämmande
<i>Proteus</i> spp.	dålig tillväxt med ljusbruna eller gröna kolonier
Gram-positiva bakterier	hämmande

Tolkning av koloniernas färger på XLD-agar¹⁰:

Röda kolonier: alkalisk reaktion, icke-fermentering av xylos/sackaros/laktos, eller fermentering av xylos följt av dekarboxylering av lysin: möjlig *Shigella* eller *Providencia* eller *Pseudomonas* spp. eller *Salmonella* sp. H₂S negativ

Röda kolonier med svart centrum: endast xylofermentering, lysinpositiv, H₂S-positiv, snabb utarmning av xylos och resulterande alkalinitet på grund av lysindekarboxylering, svart centrum på grund av H₂S-produktion endast möjlig i alkalisk pH-miljö: misstänkt *Salmonella* H₂S-positiv.

Ogenomskinliga gula kolonier: xylofermentering, lysin negativ och ingen fermentering av laktos och sackaros, surt pH: möjligen *E.coli*, *Klebsiella*/*Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Proteus* spp.

Gula kolonier: laktos- eller sackarosfermentering, lysin negativ, surt pH: möjliga koliforma bakterier eller sackarospositiv *P.vulgaris*

10 – ANVÄNDARENS KVALITETSKONTROLL

Alla tillverkade partier av produkterna släpps för försäljning efter att kvalitetskontrollen har utförts för att kontrollera att specifikationerna uppfylls. Det är dock slutanvändarens ansvar att utföra kvalitetskontrolltester i enlighet med lokala tillämpliga bestämmelser, i enlighet med ackrediteringskrav och laboratoriets erfarenhet. Nedan listas några teststammar som är användbara för kvalitetskontroll.¹¹

KONTROLLSTAMMAR	INKUBATIONSTEMPERATUR/T/ATM	FÖRVÄNTADE RESULTAT
KROMOGEN SALMONELLA-AGAR		
S.Typhimurium ATCC 14028	35–37 °C / 18–24 timmar / A	tillväxt, magentaröda kolonier
S.Enteritidis ATCC 13076	35–37 °C / 18–24 timmar / A	tillväxt, magentaröda kolonier
S.flexneri ATCC 13048	35–37 °C / 18–24 timmar / A	tillväxt, röda kolonier
E.faecalis ATCC 27853	35–37 °C / 18–24 timmar / A	hämmande
XLD AGAR		
S.Typhimurium ATCC 14028	30–35 eller 35–37 °C / 18–24 timmar / A	tillväxt, röda kolonier med svart centrum
S.flexneri ATCC 12022	30–35 eller 35–37 °C / 18–24 timmar / A	tillväxt, röda kolonier
E.faecalis ATCC 29212	30–35 eller 35–37 °C / 18–24 timmar / A	hämmande
E.coli ATCC 25922	30–35 eller 35–37 °C / 18–24 timmar / A	delvis hämmande, gula kolonier

A: aerob inkubation; ATCC är ett varumärke som står för American Type Culture Collection
Inkubationstemperaturen beror på vilken standard som följs (CLSI¹³ eller EuPh⁷)

11 – PRESTANDAEGENSKAPER



Innan produkten släpps ut på marknaden ska representativa prover från alla partier av färdiga bi-plattor av kromogen salmonellaagar / XLD-agar och av de råvaror som används för tillverkning av bi-plattor (dehydrerad kromogen salmonellaagar REF 405350 kompletterad med Salmonella Selective Supplement REF 4240013 och XLD agar, REF 402206) testas med avseende på produktivitet och selektivitet genom att resultaten jämförs med ett tidigare godkänt referensparti.

KROMOGEN SALMONELLA-AGAR

Produktiviteten testas genom ett kvantitativt test med målstammarna *S. Enteritidis* ATCC 13076 och *S. Typhimurium* ATCC 14028. Kromogena Salmonella Agar-plattor inokuleras med decimala utspädningar i saltlösning av en suspension av kolonier och inkuberas vid 35–37 °C i 18–24 timmar. Kolonierna räknas på testbatchen (TB) och referensbatchen (RB) och produktivetsförhållandet ($Pr = UFCTB/UFCTB$) beräknas. Om Pr är $\geq 0,7$ och om koloniernas morfologi är typisk (magentaröda kolonier), anses resultaten vara acceptabla och överensstämmer med specifikationerna.

Specificiteten utvärderas med hjälp av en semikvantitativ ekometrisk teknik med följande målstammar: *S. flexneri* ATCC 12022, *E. aerogenes* ATCC 13048, *E. coli* ATCC 8739; *E. aerogenes* växer med blågröna kolonier, tillväxten av *S. flexneri* hämmas inte och kolonierna är färglösa, *E. coli* hämmas delvis med färglösa kolonier. Selektiviteten utvärderas med modifierad Miles-Misra-ytdroppmetod genom att inokulera plattorna med decimala utspädningar i saltlösning från 10^{-1} till 10^{-4} av en 0,5 McFarland-suspension av icke-målstammarna *P. vulgaris* ATCC 13315, *A. calcoaceticus* ATCC 19606, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *A. hydrophila* ATCC 7966, *E. faecalis* ATCC 19433, *Mucor* CBM1. *A. hydrophila* hämmas delvis och växer med magenta kolonier; tillväxten av andra icke-målstammar hämmas helt vid utspädningen 10^{-1} .

XLD AGAR

Produktiviteten testas genom ett kvantitativt test med två målstammar: *S. Enteritidis* ATCC 13076, *S. Typhimurium* ATCC 14028; XLD-agarplattor inokuleras med decimala utspädningar i saltlösning av koloniernas suspensioner och inkuberas vid 30–35 °C i 18–24 timmar. Kolonierna räknas på båda sätterna och produktivetsförhållandet (Pr) beräknas. Om Pr är $\geq 0,7$ och om koloniernas morfologi och färg är typiska (röda kolonier med svart centrum) anses resultaten vara godtagbara och överensstämmer med specifikationerna. Dessutom testas produktivetskaraktäristika genom semikvantitativ ekometrisk teknik med målstammen *S. flexneri* ATCC 12022. Efter inkubation utvärderas och registreras koloniernas färg och tillväxt.

Selektiviteten utvärderas med modifierad Miles-Misra-ytdroppmetod genom att inokulera plattorna med decimala utspädningar i saltlösning från 10^{-1} till 10^{-3} av en 0,5 McFarland-suspension av icke-målstammarna *E. faecalis* ATCC 19433 och *E. coli* ATCC 25922. Tillväxten av icke-målstammen *E. faecalis* hämmas vid utspädningen 10^{-1} , tillväxten av Gram-negativa icke-målstammar hämmas delvis och kolonierna uppvisar en typisk gul färg, enligt specifikationerna.

Kromogen salmonellaagar utvärderades av Babic-Ergeg et al.¹⁰ på 3 000 avföringsprover, varav 45 var positiva för *Salmonella*, inklusive SS-agar som referensmedium. Författarna rapporterade en känslighet på 100 % och en specificitet på 99 % vid isolering och preliminär identifiering av *salmonellakolonier*.

I en annan oberoende studie¹¹ gav 50 rena kulturer av *Salmonella* av kliniskt ursprung alla specifika kromatiska reaktioner. Bland de övriga 80 stammarna av gramnegativa bakterier som testades, som inte tillhörde släktet *Salmonella*, gav 3 av 3 stammar av *P. aeruginosa* och 1 av 3 stammar av *A. baumannii* kromatiska resultat som liknade *Salmonella* spp. (rödrosa kolonier), medan de återstående 76 stammarna av *Enterobacteriaceae* gav icke-typiska kromatiska reaktioner; 20 av 20 stammar av grampositiva bakterier hämmades helt.

Kromogen Salmonella Agar-prestanda utvärderades i en intern studie, jämfört med Hektoen Enteric Agar (HEA). Produktivitet, selektivitet och specificitet har utvärderats med hjälp av en semikvantitativ ekometrisk teknik, genom inkubation vid 35–37 °C i 18–24 timmar, med 43 bakteriestammar: 8 målstammar och 35 icke-målstammar. 8 *Salmonella*-stammar, inklusive 2 *S. Typhi*, visade god tillväxt med magentafärgade kolonier; 3 *Shigella*-stammar visade sämre tillväxt än på HEA med färglösa kolonier; 22 *Enterobacteriaceae*-stammar tillhörande 9 släkten uppvisade sämre tillväxt än på HEA med färglösa eller blågröna kolonier; 4 *P. aeruginosa*-stammar hämmades helt; 2 icke-fermenterande stammar hämmades helt och *A. hydrophila* växte med magentaröda kolonier; 1 grampositiv stam hämmades helt och 1 jäststam hämmades delvis och uppvisade färglösa kolonier.

12 – METODENS BEGRÄNSNINGAR

- Vissa stammar av *Pseudomonas*, *Acinetobacter* och *Aeromonas*, som är resistenta mot antimikrobiella medel i kromogen salmonellaagar, kan växa med rödrosa kolonier, som kan skiljas från *Salmonella* med oxidas-test.
- Tillväxthastigheten på plattorna beror också på *Salmonella*'s näringsbehov. Det är möjligt att vissa stammar med särskilda metaboliska egenskaper inte växer på kromogen salmonellaagar eller växer färglöst (t.ex. växer *Salmonella enterica* serovar Dublin med vita kolonier).
- På XLD agar kan icke-enteriska organismer såsom *Pseudomonas* växa; *Pseudomonas* och *Providencia rettgeri* kan båda uppvisa röda kolonier. Vissa *Proteus* spp. kan utveckla svarta centrum.¹⁰
- På XLD agar kan *S. Paratyphi A*, *S. Cholerae-suis*, *S. Pullorum* och *S. Gallinarum* bilda röda kolonier utan svart centrum, vilket liknar *Shigella* spp.¹⁰
- Inkubation som överstiger 48 timmar kan leda till falskt positiva resultat.¹⁰
- 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. Tolkingen av resultaten måste göras med hänsyn till patientens kliniska historia, provets ursprung och resultaten från andra diagnostiska tester.

13 – 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.
- Denna produkt är inte klassificerad som farlig enligt gällande europeisk lagstiftning.
- Dessa odlingsmedier innehåller råvaror av animaliskt ursprung. Kontroller av djuren före och efter slakt samt kontroller under produktions- och distributionscykeln för råvarorna kan inte helt garantera att dessa produkter inte innehåller några överförbara patogener. Därför rekommenderas att de färdiga plattorna behandlas som potentiellt smittsamma och hanteras med iakttagande av de vanliga specifika försiktighetsåtgärderna: förtär inte, andas inte in och undvik kontakt med hud, ögon eller slemhinnor. Ladda ner TSE-uttalandet från webbplatsen www.biolifeitaliana.it, som beskriver de åtgärder som Biolife Italiana S.r.l. har vidtagit för att minska risken för smittsamma djursjukdomar.
- Alla laboratorieprover ska betraktas som smittsamma.
- Laboratorieområdet måste kontrolleras för att undvika föroreningar som odlingsmedium eller mikrobiella agens.
- Varje bi-platta är endast avsedd för engångsbruk.
- Färdiga bi-plattor ska inte betraktas som en "steril produkt", eftersom de inte genomgår slutsterilisering, utan som en produkt med kontrollerad biologisk kontaminering, inom gränserna för de specifikationer som anges i kvalitetskontrollcertifikatet.





- Sterilisera allt biologiskt riskavfall innan det kasseras. Kassera oanvänt medium och plattor som har inokulerats med prover eller mikroorganismer i enlighet med gällande lokal lagstiftning.
- Analyscertifikaten och säkerhetsdatabladet för produkten finns tillgängliga på webbplatsen www.biolifeitaliana.it.
- 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.

14 – FÖRVARINGSFÖRHÅLLANDEN OCH HÅLLBARHET

Förvara plattorna i originalförpackningen vid 2–8 °C och skyddade från direkt ljus. Om de förvaras korrekt kan plattorna användas fram till utgångsdatumet. Använd inte plattorna efter detta datum. Plattor från öppnade plastpåsar kan användas i 7 dagar om de förvaras i en ren miljö vid 2–8 °C. Använd inte plattorna om plastpåsen är skadad eller om skålen är trasig. Använd inte plattor som visar tecken på försämring (t.ex. mikrobiell kontaminering, uttorkning, krympning eller sprickbildning i mediet, atypisk färg, överdriven fuktighet).

15 – REFERENSER

1. Istituto Superiore di Sanità Le infezioni da Salmonella: diagnostica, epidemiologia e sorveglianza. Caterina Graziani, Pasquale Galetta, Luca Busani, Anna Maria Dionisi, Emma Filetici, Antonia Ricci, Alfredo Caprioli, Ida Luzzi 2005, 49 p. Rapporti ISTISAN 05/27
2. ISO 6579-1:2017 Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella.
3. ISO19250:2010 Water quality — Determination of Salmonella species
4. Vandepitte J Verhaegen J Engbaek K Rohner P Piot P Heuck CC. Basic laboratory procedures in clinical bacteriology. 2nd ed. 2003; Geneve:World Health Organization
5. Public Health England- UK Standards for microbiology investigations (UK SMI): searchable index. 9 January 2019
6. 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.
7. European Pharmacopoeia, current edition.
8. U.S. Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual (BAM) Chapter 5: Salmonella. Rev 12/2019
9. Baron EJ, Specimen Collection, Transport and Processing: Bacteriology. In Jorgensen JH, Carrol KC, Funke G et al. editors. Manual of clinical microbiology, 11th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2015. p.270.
10. MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985.
11. CLSI (formerly NCCLS) Quality Control of Commercially Prepared Culture Media. Approved Standard, 3rd edition. M22 A3 vol. 24 n° 19, 2004
12. Babic-Erceg A et al. 12th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Milan, April 24-27, 2002
13. Andreoni S. et al. Microbiologia Medica, 2002.

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	Endast för engångsbruk	Ömtåligt, hantera med försiktighet	

REVIDERINGSHISTORIK

Version	Beskrivning av ändringarna	Datum
Användningsinstruktioner (IFU) – Revidering 0	Första utgåvan, i enlighet med IVDR 2017/746	2021/09
Användningsinstruktioner (IFU) – Revidering 1	Borttagning av föråldrad klassificering	2023/03

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

