BRUKSANVISNINGAR

YERSINIA SELECTIVE SUPPLEMENT

Frystorkat selektivt tillskott

1 - AVSEDD ANVÄNDNING

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

2 - SAMMANSÄTTNING - INNEHÅLLET I FLASKAN FÖR 500 ML MEDIUM

Cefsulodin	7.50 mg
Novobiocin	1.25 mg

3 - METODPRINCIP OCH FÖRKLARING AV FÖRFARANDET

Yersinia Selective Supplement är en frystorkad blandning av antimikrobiella ämnen som ska användas som ett komplement 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 10273[4] och av FDA-BAM[5] 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 ämnen som finns i mediumbasen (natriumdeoxycholat, kristallviolett, irgasan) och i det lyofiliserade tillskottet (cefsulodin och novobiocin).

4- VÄGBESKRIVNING

Rekonstituera innehållet i en injektionsflaska på aseptisk väg med 5 ml sterilt renat vatten och blanda försiktigt för att lösa upp det.
Förbered 500 mL CIN Agar Base (REF 401302), autoklaverad och nedkyld till 47-50 °C och tillsätt innehållet i en ampull med Yersinia Selective Supplement under aseptiska förhållanden. Blanda väl och fördela i sterila petriskålar.

5 - FYSISKA EGENSKAPER

Frystorkat tilläggsutseende	kort, tät, vit pastil
Utseende av det rekonstituerade tillägget	klar, färglös

6 - TILLHANDAHÅLLET MATERIAL - FÖRPACKNING

Produkt	Typ	REF	Förpackning
Yersinia Selective Supplement	Frystorkat tillskott	4240011	10 flaskor, var och en för 500 mL MEDIUM. CND: W0104010104; EDMA: 14.01.01.01.04; RDM: 1892760/R

7 - MATERIAL KRÄVS MEN TILLHANDAHÅLLS INTE

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

8 - EXEMPLAR

CIN Agar Base tillsatt med Yersinia Selective Supplements är avsedd för bakteriologisk behandling av kliniska prover, t.ex. avföring och rektalsvabbar[2,3] och icke-kliniska prover, t.ex. livsmedel och djurfoder[4,5] . God laboratoriepraxis för insamling, transport och förvaring av kliniska prover bör tillämpas. Samla in prover före antimikrobiell behandling om möjligt. Se lämpliga standardmetoder för detaljer om insamling och beredning av livsmedelsprov.[4,5]

9 - PROVNINGSFÖRFARANDE

Låt plattorna komma till rumstemperatur och låta mediets yta torka.

Kliniska prover

Inokulera och streama provet med en slinga 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, kan du rulla svabben över ett litet område av ytan vid kanten och sedan streama från detta inokulerade område.
Fekalier kan spädas 1:4 i steril koksaltlösning eller 0,1 % peptonvatten. Det har visat sig att utspädning avsevärt minskar mängden konkurrerande flora utan att äventyra isoleringen av ett lågt antal patogener. [3]
Inkubera aerobt vid 28-30 °C i 24-48 timmar.[3]

Prover från livsmedelskedjan[4]

Det allmänna förfarandet innebär att:

- Direkt utläggning av provsuspensionen 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 kulturerna (0,5 ml kultur + 4,5 ml KOH 0,5 % i saltlösning i 20 s ± 5 s) och utläggning på CIN-agar (inkubation vid 30 °C ± 1 °C i 24 timmar ± 2 timmar).
- Användaren kan välja ett andra utläggningsmedium (t.ex. Chromogenic Yersinia Agar)***.

Anteckningar

* Yersinia PSB Broth (REF 402270). ** Yersinia ITC Broth Base REF 402265 tillsatt med tillägg av kaliumklorat (REF 4240065) och antimikrobiellt tillägg av Ticarcillin Irgasan (REF 4240060). *** Chromogenic Yersinia Agar Base (REF 408050) tillsatt med Chromogenic Yersinia Supplement (REF 4240095).

10 - LÄSNING OCH TOLKNING

Efter inkubation, observera bakterietillväxten och registrera koloniernas specifika morfologiska och kromatiska egenskaper.
Y.enterocolitica fermenterar mannitol och utvecklar kolonier med djupröda centra med skarpa gränser (oregelbundna eller hela), omgivna av en yttre zon som vanligtvis är genomskinlig ("bull's eye"-kolonier). Kolonistorlek, jämnhet och förhållandet mellan kant- och centrumdiametern varierar avsevärt mellan serotyperna.
Mannitol som inte fermenterar växer med färglösa eller blekgula kolonier.
Tillväxten av andra organismer än Yersinia-organismer hämmas tydligt eller helt.

Biolife Italiana S.r. l., Viale Monza 272, 20128 Milano, Italia.
Tel. +39 02 25209.1, fax +39 02 2576428
E-post: export@biolifeitaliana.it; webb: www.biolifeitaliana.it

11 - KVALITETSKONTROLL AV ANVÄNDARE

Alla tillverkade partier av produkten släpps till försäljning efter att kvalitetskontrollen har utförts för att kontrollera att specifikationerna följs. Det är dock slutanvändarens ansvar att utföra kvalitetskontrollprovning i enlighet med lokala tillämpliga bestämmelser, i enlighet med ackrediteringskraven och laboratoriets erfarenhet. Nedan listas några teststammar som är användbara för kvalitetskontrollen.[9]

KONTROLLSTAMMAR	INKUBATION	T°/ T / ATM	FÖRVÄNTADE RESULTAT
Y.enterocolitica	ATCC9610	28-30°C / 18-24H / A	god tillväxt, kolonier med röd mitt
P.aeruginosa	ATCC27853	28-30°C / 44-48H / A	Tillväxt hämmad eller delvis hämmad, färglösa kolonier.
E.coli	ATCC25922	28-30°C / 44-48H / A	hämmad
E.faecalisATCC	19433	28-30°C / 44-48H / A	hämmad

A: aerob inkubation; ATCC är ett varumärke för American Type Culture Collection.

12 - EGENSKAPER FÖR FRAMTRÄDANDEN

Innan produkten släpps ut till försäljning testas ett representativt prov av alla partier av Yersinia Selective Supplement som tillsätts till dehydrerad CIN Agar Base för att kontrollera produktivitet och selektivitet genom att jämföra resultaten med tidigare godkända referensbatcher.
Produktiviteten testas genom ett kvantitativt test med målstammarna *Y.enterocolitica* ATCC 23715 och; plattorna inokuleras med decimalutspädningar i saltlösning av kolonisuspensionerna 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 ≥ 0.7 och om kolonierna uppvisar typiska egenskaper ("bull's eye"-kolonier) anses resultaten vara acceptabla och överensstämma med specifikationerna. Produktiviteten testas också med ekometrisk metod med *Y.enterocolitica* DSM 13030 och *Y.enterocolitica* ATCC 9610.
Selektiviteten utvärderas med den modifierade Miles-Misra-metoden genom att inokulera plattorna med lämpliga decimalutspädningar 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 och *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 det typiska röda centret kan vara oklart eller saknas. [4]
- *Y.intermedia, Y.frederiksenii och Y.kristensenii* växer lika bra som *Y.enterocolitica* på CIN-agar och uppvisar samma koloni-morfologi.[6]
- *Serratia, Enterobacter* och *Citrobacter* hämmas svagt. *Serratia* och *Enterobacter* utvecklar upphöjda och slemmiga kolonier med en diffus rosa pigmentering, även om de ibland kan förväxlas med kolonier av *Y. enterocolitica*. Citrobacter-kolonier är de som ligger närmast *Yersinia* och kan inte särskiljas enbart genom sina morfologiska egenskaper.[6]
- Majoriteten av *Y.*pseudotuberculosis-stammarna hämmas av koncentrationen 15 mg/L cefsulodin.[7]
- Vissa stammar av *Y.enterocolitica* serovar O3 växer inte på CIN Agar.[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 isolaten från renodlade kulturer för fullständig identifiering. Om det är relevant, utför testning av antimikrobiell känslighet.
- Odlingsmediet och tillägget 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

- Tillägget är en kvalitativ *in* vitro-diagnostik, endast för yrkesmässig användning; det måste användas av tillräckligt utbildad och kvalificerad laboratoriepersonal, som iakttar godkända försiktighetsåtgärder för biologiska risker och aseptiska tekniker.
- Antibiotika som innehåller kosttillskott måste hanteras med lämpligt skydd; läs säkerhetsdatabladet före användning.
- Tillägget och den medelsvaga basen ska användas tillsammans i enlighet med de anvisningar som beskrivs ovan.
- Tillämpa god tillverkningspraxis vid beredningen av pläterade medier.
- Tillägget steriliseras genom membranfiltrering.
- Var försiktig när du öppnar metallringen för att undvika skador.
- Alla laboratorieprover bör betraktas som smittsamma.
- Laboratorieområdet måste kontrolleras för att undvika föroreningar, t.ex. pulver, tillsatser eller mikrobiella agenser.
- Sterilisera allt biofarligt avfall före bortskaffande. Kassera oanvända kosttillskott och steriliserade medier som inokulerats med prover eller mikrobiella stammar i enlighet med gällande lokal lagstiftning.
- Använd inte tillägget som aktiva ingredienser i farmaceutiska preparat eller som produktionsmaterial avsett för människor och djur.
- Analysintyg och säkerhetsdatablad för produkten finns 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 skyldighet eller ansvar. I samtliga fall måste befintliga lokala lagar, förordningar och standardförfaranden följas vid undersökning av prover som samlats in från organiska distrikt för människor och djur, för miljöprover och för produkter som är avsedda att konsumeras 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

Förvara produkten i originalförpackningen vid 2-8 °C, bort från direkt ljus, när du har mottagit den. Om produkten förvaras på rätt sätt kan den användas fram till det utgångsdatum som anges på etiketten; använd inte produkten efter detta datum. När injektionsflaskan har öppnats och den lyofiliserade produkten har rekonstituerats ska den resulterande lösningen användas omedelbart. Före användning ska den lyofiliserade och rekonstituerade produkten undersökas och kasseras om det finns uppenbara tecken på försämring (t.ex. kontaminering, atypisk färg eller andra onormala egenskaper).
Användaren är ansvarig för tillverkning och kvalitetskontroll av pläterade medier och för validering av deras hållbarhet i enlighet med de tillämpade lagringsförhållandena (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 03 Inhibited on Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin Agar. J Clin Microbiol 1986, 24:116-120

4240011 YERSINIA SELECTIVE SUPPLEMENT

SDS rev 7
Förordning (EU) 2020/878

Blandning med farliga beståndsdelar: cefsulodinnatrium och novobiocin.

Klassificering

Ögonirritation, kategori 2	H319	Orsakar allvarlig ögonirritation.
Hudirritation, kategori 2	H315	Orsakar hudirritation.
Känslighet vid andning, kategori 1 svårigheter vid inandning.	H334	Kan orsaka allergi- eller astmasymptom eller andning.
Hudkänslighet, kategori 1	H317	Kan orsaka en allergisk hudreaktion.

Märkning

Piktogram



Signalord Varning

Faroangivelser:

H319	Orsakar allvarlig ögonirritation.
H315	Orsakar hudirritation.
H334	Kan orsaka allergi- eller astmasymptom eller andningssvårigheter vid inandning.
H317	Kan orsaka en allergisk hudreaktion.

Försiktighetsföreskrifter:

P261	Undvik att andas in damm / rök / gas / dimma / ångor / spray.
P280	Använd skyddshandskar/ögonskydd/ansiktsskydd.
P342+P311	Vid symtom på andningsbesvär: Ring en giftcentral / läkare / . . .
P304+P340	VID INANDNING: För bort personen till frisk luft och gör det bekvämt att andas.
P333+P313	Om hudirritation eller utslag uppstår: Få medicinsk rådgivning / uppmärksamhet.
P337+P313	Om ögonirritation kvarstår: Kontakta läkare.

TABELL ÖVER TILLÄMPLIGA SYMBOLER

REF eller REF Katalognummer	LOT Kod för en sats	IVD Medicinsk utrustning för *in* vitro-diagnostik	Tillverkare	Den här sidan uppåt	
Temperaturbegränsning	Innehåll som är tillräckligt för <n> tester	Läs bruksanvisningar	Användning av	Håll dig borta från direkt ljus	Bräcklig

REVIDERINGSHISTORIK

Version	Beskrivning av ändringarna	Datum
Revidering 1	Uppdaterad layout och innehåll	2022/01

Observera: Mindre typografiska, grammatiska och formateringsändringar ingår inte i revideringshistoriken.