



BD BBL CHROMagar Staph aureus



НАЗНАЧЕНИЕ

BBL CHROMagar Staph aureus — селективная питательная среда для выделения, количественного определения и идентификации *Staphylococcus aureus* из клинических проб и образцов пищевых продуктов. Проведение подтверждающего анализа типовых изолятов из клинических проб не требуется.

BBL CHROMagar Staph aureus (готовая питательная среда для чашек Петри) валидирована исследовательским институтом AOAC в соответствии с программой Performance Tested Methods (Методы, проверенные по рабочим характеристикам) для анализа натуральных яиц, копченого лосося и вареного ростбифа при использовании методов AOAC и ISO.^{1,2} Требуется подтверждающий анализ колоний, окрашенных в розово-лиловый цвет, полученных из вышеуказанных пищевых продуктов.

ПРИНЦИПЫ И ОПИСАНИЕ МЕТОДИКИ

Микробиологический метод.

S. aureus — хорошо изученный патогенный микроорганизм. Он вызывает разнообразные инфекции — от поверхностных до системных.^{3,4} Ввиду его широкой распространенности и разнообразия клинических проявлений методы обнаружения данного микроорганизма исключительно важны.

Стафилококковое пищевое отравление, вызванное *S. aureus*, — одно из наиболее частых заболеваний пищевого происхождения во всем мире. Его регистрация и учет обеспечивает информацию о потенциальной опасности для здоровья пищевых продуктов, одновременно являясь индикатором низкого уровня гигиены.⁵ Рекомендуется также использовать этот микроорганизм как показатель качества воды.⁶

BBL CHROMagar Staph aureus предназначается для выделения, количественного определения и идентификации *S. aureus* на основе формирования колоний, окрашенных в розово-лиловый цвет. Добавление в среду окрашивающих субстратов облегчает дифференциацию *S. aureus* от других микроорганизмов.

Преимуществом **BBL CHROMagar Staph aureus** в сравнении с некоторыми традиционными средами, такими как агар Бэйрда-Паркера, является возможность идентификации *S. aureus* в течение 24 ч, а не 48 ч.

BBL CHROMagar Staph aureus был впервые разработан A. Rambach (компания CHROMagar, Париж, Франция). Компания BD оптимизировала его состав в соответствии с лицензионным соглашением, использовав запатентованную интеллектуальную собственность при производстве готовой культуральной питательной среды для чашек Петри **BBL CHROMagar Staph aureus**. Источником питательных веществ являются специально подобранные пептоны **Difco**. Добавление подобранных веществ угнетает рост грамотрицательных микроорганизмов, дрожжей и некоторых грамположительных кокков. Хромогенная смесь состоит из искусственно синтезированных веществ (хромогенов), которые при их гидролизе специфическими ферментами высвобождают нерастворимый окрашивающий компонент.

* ПРЕДОСТАВЛЕННЫЕ ИЗГОТОВИТЕЛЕМ ОБРАЗЦЫ ИЗ ДАННОЙ МОДЕЛИ НАБОРА ДЛЯ ТЕСТИРОВАНИЯ УСПЕШНО ПРОШЛИ НЕЗАВИСИМУЮ ПРОВЕРКУ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ИНСТИТУТА АОАС НА СООТВЕТСТВИЕ ХАРАКТЕРИСТИКАМ, УКАЗАННЫМ ИЗГОТОВИТЕЛЕМ НА ВКЛАДЫШЕ С ОПИСАНИЕМ ДАННОГО НАБОРА ДЛЯ ТЕСТИРОВАНИЯ. ПРОИЗВОДИТЕЛЬ УДОСТОВЕРЯЕТ ПОЛНОЕ СООТВЕТСТВИЕ ДАННОГО НАБОРА СПЕЦИФИКАЦИИ, ПРОШЕДШЕЙ НЕЗАВИСИМУЮ ПРОВЕРКУ В ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОМ ИНСТИТУТЕ АОАС, КАК УКАЗАНО В СЕРТИФИКАТЕ № 100503 ПРОГРАММЫ Performance Tested Methodssm.

Это облегчает обнаружение и дифференциацию *S. aureus* от других микроорганизмов. *S. aureus* утилизирует один из хромогенных субстратов, формируя колонии розово-лилового цвета. Рост розово-лиловых колоний через 24 ч после посева на **BBL CHROMagar Staph aureus** признан положительным показателем присутствия *S. aureus* в пробе. Другие бактерии (не *S. aureus*) могут утилизировать другие хромогенные субстраты, в результате формируя синие, сине-зеленые или (если не утилизируется ни один хромогенный субстрат) бесцветные колонии.

РЕАГЕНТЫ

BBL CHROMagar Staph aureus

Примерная рецептура* на литр очищенной воды

Хромопептон	40,0 г
Натрия хлорид	25,0 г
Смесь хромогенных веществ	0,5 г
Ингибиторы	0,07 г
Агар	14,0 г

pH: 6,8 ± 0,2

*При необходимости изменяется и/или дополняется для соответствия критериям эффективности.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

IVD . Только для профессионального применения. Ⓢ

Если наблюдается избыток влаги, переверните чашку вверх дном со смещенной крышкой и просушите во избежание образования непроницаемого слоя между верхней и нижней частями чашки во время засеивания. Защищайте от света во время просушки. См. раздел

ХРАНИЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ.

Не используйте чашки при наличии признаков бактериального заражения, изменения цвета, высыхания или других признаков разложения продукта.

В клинических образцах могут присутствовать патогенные микроорганизмы, в том числе вирус гепатита и вирус иммунодефицита человека (ВИЧ). При работе с любыми предметами, загрязненными кровью и другими биологическими жидкостями соблюдайте правила, принятые в учреждении, а также стандартные меры предосторожности.⁷⁻¹⁰

При выполнении любых процедур соблюдайте правила асептики и установленные меры биологической безопасности.

После использования перед утилизацией стерилизуйте в автоклаве подготовленные чашки, контейнеры для образцов и другие загрязненные материалы.

Прочитайте документ **ОБЩИЕ ИНСТРУКЦИИ ПО ПРИМЕНЕНИЮ**, в котором приведено описание асептических методов работы, биологических опасностей и утилизации использованных продуктов.

ХРАНИЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ

После получения храните чашки в темноте при температуре от 2 до 8 °C в оригинальной обертке до начала использования. Избегайте замораживания и перегрева. Чашки могут быть засеяны до даты истечения срока годности (см. этикетку на упаковке) и инкубированы в течение рекомендованного времени инкубации.

Чашки из открытых стопок по 10 чашек могут использоваться в течение одной недели при условии хранения с соблюдением чистоты при температуре от 2 до 8 °C.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Проверьте эффективность путем засева репрезентативной выборки чашек с чистыми культурами стабильных контрольных микроорганизмов, которые дают известные требуемые реакции. (Подробные сведения см. в документе **ОБЩИЕ ИНСТРУКЦИИ ПО ПРИМЕНЕНИЮ**.) Рекомендуется использовать тестовые штаммы из следующей таблицы. Инкубируйте чашки в аэробных условиях в темном месте в течение 18 – 24 ч при температуре 35 ± 2 °C.

Штаммы	Результаты роста
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Рост; розовато-лиловые колонии
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> ATCC 15305	Рост; колонии от зеленого до сине-зеленого цвета
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Ингибирование (от частичного до полного)
Незасеянные	От бесцветных до янтарно-желтых, от прозрачных до слегка мутных

Следуйте требованиям контроля качества в соответствии с применимым местным, региональным и/или федеральным законодательством, требованиями аккредитации и методиками контроля качества, принятыми в лаборатории. Для получения информации о надлежащих методиках контроля качества пользователям в клинических лабораториях рекомендуется ознакомиться с документацией Института клинических и лабораторных стандартов США (CLSI, ранее NCCLS).

МЕТОДИКА

Поставляемые материалы

BBL CHROMagar Staph aureus, поставляемый в 90-мм культуральных чашках Петри

Необходимые, но не предоставляемые материалы. Требуется дополнительная питательная среда, реагенты, культуры микроорганизмов для контроля качества и другое лабораторное оборудование.

Типы образцов

Для получения детальной информации о порядке отбора и обращения с пробами/образцами ознакомьтесь с соответствующими публикациями или стандартами. Данная среда используется для выделения *Staphylococcus aureus* из любых клинических проб. См. также раздел **ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ОГРАНИЧЕНИЯ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДИКИ**.

При тестировании пищевой продукции информацию о методиках подготовки и обработки образцов см. в описании соответствующих стандартных методик в зависимости от типа образца и географического расположения.

Методика тестирования

Соблюдайте асептическую методику работы. Поверхность агара должна быть гладкой и влажной, но без избытка влаги. При анализе клинических проб внесите их по возможности быстрее после получения в чашку **BBL CHROMagar Staph aureus** и проведите полосы для последующего выделения культуры. Если образец засевают с тампона, следует аккуратно поворачивать тампон над небольшим участком поверхности возле края, а затем сделать штрихи с этого участка с помощью петли. Инкубируйте чашки в аэробных условиях при температуре 35 ±2 °C в течение 20 – 24 ч в перевернутом положении (поверхность агара сверху).

При тестировании образцов пищи см. соответствующие справочные материалы и следуйте соответствующим стандартным методикам. Нанесите гомогенаты проб пищи на среду **BBL CHROMagar Staph aureus**, используя поверхностную методику. Инкубируйте чашки аэробно при температуре 35-37 °C в течение 20 – 28 ч в перевернутом положении (стороной с агаром вверх).

Результаты

После правильно выполненной инкубации исследуйте чашки на белом фоне. *S. aureus* образует на среде **BBL CHROMagar** колонии от розовато-лилового до оранжево-лилового цвета. Большинство грамположительных микроорганизмов при отсутствии задержки роста будут образовывать синие, сине-зеленые или бесцветные (белые или кремового цвета) колонии. Рост грамотрицательных микроорганизмов и грибов на данной среде полностью или частично тормозится.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ОГРАНИЧЕНИЯ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДИКИ

Результаты определения эффективности¹²

Клиническое тестирование

1. В полевом испытании, проведенном крупной американской столичной больницей, с помощью среды **BBL CHROMagar Staph aureus** анализировалась 201 проба глоточных смывов и мокроты от пациентов с муковисцидозом и 459 смывов из полости носа от других пациентов больницы. Результаты, полученные на **BBL CHROMagar Staph aureus**, сравнивали с данными анализов на кровяном агаре или на маннит-солевом агаре с подтверждением выделения культур в слайд-тесте на коагулазу. *S. aureus* был выделен в общей сложности из 190 проб. С помощью **BBL CHROMagar Staph aureus** было выявлено еще 9 проб, положительных на *S. aureus*, из которых не была выделена культура на обычных средах. Наблюдалось также четыре потенциально ложноположительных результата на среде **BBL CHROMagar Staph aureus** после 24 ч инкубирования: два - с коринебактериями и два - с коагулазоотрицательными стрептококками. **BBL CHROMagar Staph aureus** продемонстрировала общую чувствительность на уровне 99,5% и специфичность на уровне 99,2%.¹¹

2. В ходе европейского исследования сто шестьдесят пять (165) проб из обычных лабораторий, в том числе 100 проб, в которых стандартными методами был выявлен *S. aureus* (= определенно положительные пробы), и 65 определенно отрицательных проб, наносились штриховым методом на **CHROMagar Staph aureus**, маннит-солевой агар и колумбийский агар с 5% крови барана. Типы проб приведены в таблице 1. Чашки инкубировали в течение от 20 до 24 часов при температуре от 35 до 37 °C и затем подсчитывали колонии, подозрительные на *S. aureus*. Все подозрительные колонии, полученные на всех трех средах, анализировали на коагулазу в пробирочном тесте. Кроме того, определяли интенсивность роста *S. aureus* (полуколичественным методом подсчета).

Таблица 1. Типы образцов

Категория типы	определенно положительных на <i>S. aureus</i> проб	определенно отрицательных на <i>S. aureus</i> проб
Абсцессы	14	6
Асцитическая жидкость	1	0
Кость	1	0
Суставная сумка	1	0
Катетер	4	0
Дренаж	1	0
Фистула	0	1
Хирургические пробы	12	15
Различные тампоны	12	19
Флегмона	1	0
Секрет трахеи	1	0
Раны	52	24
Всего	100	65

Результаты: Из 165 проб в 100 был получен рост *S. aureus* на любой среде, а также подтверждение в тесте на коагулазу для любой среды.

На **CHROMagar Staph aureus** в 100 пробах был продемонстрирован рост *S. aureus*; на маннит-солевом агаре — в 91 пробе; на колумбийском агаре при подтверждении в тесте на коагулазу было получено 98 положительных результатов на *S. aureus*. Был зарегистрирован один ложноположительный результат на **CHROMagar Staph aureus**, причиной которого оказался *Streptococcus agalactiae*. При пересеве штамма на среду **CHROMagar Staph aureus** гораздо большее количество колоний было фиолетового цвета, чем от розовых до розовато-лиловых.

Среди определенно отрицательных проб было пять культур с фиолетовыми или сиреневыми колониями, напоминавшими по цвету колонии *S. aureus*. Однако они легко поддавались дифференциации от колоний *S. aureus* (=от розовых до розовато-лиловых) соотрудницей, не имеющей достаточного опыта оценки цвета колоний в культурах различных видов, выращенных на среде (перед началом исследования ее лишь кратко информировали, с какими микроорганизмами предстоит работать и каким должен быть цвет колоний, выращенных на данной среде).

Показатели чувствительности **CHROMagar Staph aureus** (на основе учета от розовых до розовато-лиловых колоний), маннит-солевого агара (на основе учета колоний, окруженных желтой средой) и колумбийского агара (рост типичных для *S. aureus* колоний с подтверждением в тесте на коагулазу) составили 100%, 91% и 98%, соответственно. Показатель специфичности **CHROMagar Staph aureus** составил 98,5%.

Интенсивность роста на среде **CHROMagar Staph aureus** чаще была значительно выше, чем на МСА ($p = 0,05$); см. Таблицу 2.

CHROMagar Staph aureus может использоваться для анализа широкого спектра проб.

Таблица 2. Интенсивность роста изолятов *S. aureus* на КСА* по сравнению с МСА*

	Интенсивность роста					
	КСА = Кол	КСА > Кол	Кол > КСА	КСА = МСА	КСА > МСА	МСА > КСА
Количество проб	74	12	14	74	18**	8

* КСА, **CHROMagar Staph aureus**; МСА, маннит-солевой агар; Кол, Колумбийский агар с 5% крови барана

** различие статистически достоверно ($p = 0,05$)

Тестирование пищевой продукции

BBL CHROMagar Staph aureus валидирован Исследовательским институтом АОАС в рамках Программы проверки характеристик методов. Среда оценивалась независимой референс-лабораторией, а также прошла внутреннюю проверку в компании BD на выявление и количественное определение *S. aureus* в вареном ростбифе, копченном лососе и натуральных яйцах. Показатели выявления и количественного определения *S. aureus* на среде **BBL CHROMagar Staph aureus** сравнивали с показателями на референсных средах для чашек Петри в соответствии с требованиями АОАС и ISO, на агаре Бэйрда-Паркера, используя рекомендованные дилюенты при низком, среднем и высоком уровнях содержания *S. aureus*. После 24 ч инкубирования проводили подсчет на среде **BBL CHROMagar Staph aureus** и после 48 ч — на агаре Бэйрда-Паркера. В результате статистической обработки данных не выявлено значительных различий между референсными методами и методом с использованием **BBL CHROMagar Staph aureus** при любом типе пищевого продукта, для любого уровня инокулята, за исключением анализа пробы копченого лосося при низком уровне инокулята. При анализе пробы копченого лосося с низким уровнем инокулята было продемонстрировано статистически достоверное отличие по результатам внутренних тестов методом ISO; т.е., метод на среде **BBL CHROMagar Staph aureus** через 24 ч выявил больше колоний ($\log_{10} = 2,04$), чем референс-метод ISO через 48 ч ($\log_{10} = 1,64$). Точность определения с помощью среды **BBL CHROMagar Staph aureus** при многократном повторении анализа была удовлетворительной. Полученный коэффициент корреляции в диапазоне от 92,6% до 99,4% свидетельствует о сильной корреляции для всех уровней инокулята и всех типов пищевых продуктов. Данные суммированы в таблицах 1 и 2. При использовании **BBL CHROMagar Staph aureus** не зарегистрировано ни одного ложноположительного результата анализа пищевых продуктов. Было подтверждено наличие *S. aureus* во всех розовато-лиловых колониях без каких-либо сомнений. Дополнительная оценка чувствительности и специфичности метода с использованием среды **CHROMagar Staph aureus** была проведена с 30

штаммами *S. aureus*, в том числе с известными штаммами — продуцентами энтеротоксина, а также с 37 изолятами, не являющимися *S. aureus* с получением в итоге значения обоих показателей 100%.¹¹

Таблица 1. Обзор результатов независимой проверки метода, проведенной АОАС и ISO с пробами вареного ростбифа и натуральных яиц¹⁻³

ISO с прессами вареного ростбифа и натуральных яиц				
	Уровень посева	t-тест для парных выборок или однофакторный ANOVA ^a	АОАС Воспроизводимость (среднеквадратическое отклонение) ^b	Квадрат линейного коэффициента корреляции
Вареный ростбиф	Низкий	Не значимый	0,398	96,0%
	Среда	Не значимый	0,04	
	Высокий	Не значимый	0,062	
Натуральные яйца	Низкий	Не значимый	0,302	95,5%
	Среда	Не значимый	0,089	
	Высокий	Не значимый	0,143	
ISO				
	Уровень посева	t-тест для парных выборок или однофакторный ANOVA ^a	Воспроизводимость (среднеквадратическое отклонение) ^b	Квадрат линейного коэффициента корреляции ^c
Вареный ростбиф	Низкий	Не значимый	0,315	94,6%
	Среда	Не значимый	0,045	
	Высокий	Не значимый	0,117	
Натуральные яйца	Низкий	Не значимый	0,341	92,6%
	Среда	Не значимый	0,223	
	Высокий	Не значимый	0,135	

Сноски см. Таблицу 2

Таблица 2. Обзор результатов независимой проверки метода, проведенной АОАС и ISO, и внутренней проверки с пробами копченого лосося

	Уровень посева	t-тест для парных выборок или однофакторный ANOVA ^a		Воспроизводимость (среднеквадратическое отклонение) ^b		Квадрат линейного коэффициента корреляции ^c	
		Не значимый	Не значимый				
АОАС, копченый лосось	Низкий	Не значимый	Не значимый	0,132	0,271	99,4%	93,2%
	Среда	Не значимый	Не значимый	0,055	0,095		
	Высокий	Не значимый	Не значимый	0,064	0,161		
ISO, копченый лосось	Низкий	Не значимый	Значимый ^d	0,158	0,227	98,7%	97,4%
	Среда	Не значимый	Не значимый	0,135	0,165		
	Высокий	Не значимый	Не значимый	0,116	0,033		

a t-тест для парных выборок и однофакторный дисперсионный анализ ANOVA использовались при оценке сравнительных характеристик **BBL CHROMagar Staph aureus** против референсной среды путем сравнения средних значений подсчета колоний, выраженных в log₁₀.

b При оценке воспроизводимости метода на среде **BBL CHROMagar Staph aureus** продемонстрированы сравнимые результаты анализов одних и тех же проб одним и тем же методом.

c Квадрат линейного коэффициента корреляции используется для оценки точности количественных методов определения при различных концентрациях *S. aureus*.

d С помощью среды **BBL CHROMagar Staph aureus** было выявлено больше проб, содержащих *S. aureus*, чем референс-методом ISO.

Ограничения применения методики

Иногда некоторые штаммы стафилококков, не являющиеся *S. aureus*, такие как: *S. cohnii*, *S. intermedius* и *S. schleiferi*, а также коринебактерии и грибы, могут формировать колонии розовато-лилового цвета после 24 ч роста.¹¹ Дифференциация *S. aureus* от таких микроорганизмов может дополняться тестом на коагулазу, другими биохимическими

тестами или окрашиванием по Граму. Также могут просачиваться резистентные грамотрицательные бактерии, для которых типичными являются мелкие синие колонии. Не рекомендуется проводить инкубирование свыше 24 ч (для клинических проб) и 28 ч (для проб пищевых продуктов) из-за увеличения потенциального риска получения ложноположительных результатов. Если рекомендованная продолжительность инкубирования превышена, перед регистрацией результата учета розовато-лиловых колоний следует провести подтверждающий тест на наличие в них *S. aureus*. Инкубирование менее рекомендованных 20 ч может снизить процент корректных результатов. По причине наличия природного золотистого пигмента ряд штаммов *S. aureus* может формировать оранжево-лиловые колонии.

СПРАВОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. AOAC Official Method 9755.55. *Staphylococcus aureus* in foods. Surface plating method for isolation and enumeration. 1976.
2. International Organization for Standards (ISO). Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive *Staphylococci* (*Staphylococcus aureus* and other species) - Part 1: Technique using Baird Parker agar medium, 1st ed., ISO 6888-1:1999.
3. Jablonski, L.M. and G.A. Bohach. 1997. *Staphylococcus aureus*. In M. Doyle, L. Beuchat and T. Montville (eds.), Food microbiology fundamentals and frontiers. ASM, Washington, DC.
4. Bannerman, T.L. 2003. *Staphylococcus*, *Micrococcus*, and other catalase-positive cocci that grow aerobically. In P.R. Murray, E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Tenover (eds.), Manual of clinical microbiology, 8th edition. ASM, Washington DC.
5. Bennett, R.W. and G.A. Lancefield. 1998. *Staphylococcus aureus*. In FDA, Bacteriological analytical manual, 8th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.
6. Toranzos, G.A., G.A. McFeters and J.J. Borrego. 2002. Detection of microorganisms in environmental freshwaters and drinking waters. In C. Hurst, R. Crawford, G. Knudsen, M. McInerney and L. Stetzenbach (eds.), Manual of environmental microbiology, 2nd ed. ASM Press, Washington, DC.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, formerly NCCLS). Approved Guideline M29. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Search for latest version at www.clsi.org
8. Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. Infect. Control Hospital Epidemiol. 17:53-80.
9. U.S. Department of Health and Human Services. 1999. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 4th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, DC.
10. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). Official Journal L262, 17/10/2000, p. 0021-0045.
11. Данные из архива; компания BD Diagnostic Systems.

УПАКОВКА И НАЛИЧИЕ

REF 257074 Готовая к использованию среда в чашках; 20 чашек
REF 257099 Готовая к использованию среда в чашках; 120 чашек

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Для получения дополнительной информации обратитесь к местному представителю компании BD.



Becton Dickinson GmbH

Tullastrasse 8 – 12

D-69126 Heidelberg/Germany

Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16

Reception_Germany@europe.bd.com

<http://www.bd.com>

<http://www.bd.com/europe/regulatory/>

AOAC is a trademark and Performance Tested Methods is a service mark of AOAC International.

CHROMagar is a trademark of Dr. A. Rambach.

Difco is a trademark of Difco Laboratories, Inc., subsidiary of Becton, Dickinson and Company.

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2011 BD