

BD BBL™ CHROMagar™ Staph aureus**TILSIGTET BRUG**

BBL CHROMagar Staph aureus er et selektivt medium til isolering, optælling og identifikation af *Staphylococcus aureus* fra kliniske kilder og fødevarekilder. Konfirmatoriske test af typiske isolater fra kliniske kilder er ikke påkrævet.

BBL CHROMagar Staph aureus (præpareret plademedium) er blevet godkendt af AOAC™ Research Institute Performance Tested MethodsSM-programmet til analyse af rigtige æg, røget laks og tilberedt oksekød, når der anvendes AOAC- og ISO-metoder.^{1,2} Konfirmatorisk test af grållilla kolonier indhentet fra fødevarematricerne nævnt ovenfor er påkrævet.

PROCEDURENS PRINCIPPER OG FORKLARING

Mikrobiologisk metode.

S. aureus er et veldokumenteret patogen. Det er ansvarligt for infektioner, der spænder fra superficielle til systemiske.^{3,4} På grund af denne organismes prævalens og dens kliniske betydning er påvisning af største vigtighed.

Stafylokok-fødevareforgiftning forårsaget af *S. aureus* er en af de mest almindelige typer fødevarebårne sygdomme verden over. Dens påvisning og optælling bidrager med oplysninger om fødevarers potentielle sundhedsrisiko og er samtidig en indikator på dårlig hygiejne.⁵ Det anbefales også, at denne organisme bruges som indikator for vandkvalitet.⁶

BBL CHROMagar Staph aureus er beregnet til isolation, optælling og identifikation af *S. aureus* baseret på dannelse af grållilla kolonier. Tilsætning af chromogene substrater i mediet letter differentieringen af *S. aureus* fra andre organismer.

BBL CHROMagar Staph aureus har en fordel frem for traditionelle medier, f.eks. Baird-Parker agar, idet det er muligt at identificere *S. aureus* på 24 timer i modsætning til 48 timer.

BBL CHROMagar Staph aureus blev oprindeligt udviklet af A. Rambach, CHROMagar, Paris, Frankrig. BD har under en licensaftale optimeret denne formulering ved brug af navnebeskyttet åndelig ejendom anvendt ved fremstilling af **BBL CHROMagar Staph aureus** præpareret plademedium. Særligt udvalgte **Difco™** peptoner supplerer næringsstofferne. Tilsætningen af selektive stoffer hæmmer væksten af Gram-negative organismer, gær og visse Gram-positive cocci. Chromogenblandingen består af kunstige substrater (chromogener), som frigiver en ikke-opløselig, farvet forbindelse, når den hydrolyseres af specifikke enzymer. Dette letter påvisning og differentiering af *S. aureus* fra andre organismer. *S. aureus* anvender ét af de chromogene substrater, som producerer grållilla kolonier. Vækst af grållilla kolonier ved 24 timer på **BBL CHROMagar Staph aureus** betragtes som positiv for *S. aureus*. Andre bakterier end *S. aureus* kan anvende andre chromogene substrater, der giver blå, blågrønne eller, hvis der ikke anvendes chromogene substrater, naturligt farvede kolonier.

*PRODUCENT-LEVEREDE PRØVER FOR DENNE TESTKITMODEL BLEV EVALUERET UAFHÆNGIGT AF AOAC RESEARCH INSTITUTE OG BLEV FUNDET AF FUNGERE I HENHOLD TIL PRODUCENTENS SPECIFIKATIONER, SOM ANGIVET I TESTKITTETS DESKRIPTIVE INDLÆGGSSEDDEL. PRODUCENTEN BEKRÆFTER, AT DETTE KIT I ALLE HENSEENDER ER I OVERENSSTEMMELSE MED SPECIFIKATIONERNE, SOM OPRINDELIGT BLEV EVALUERET AF AOAC RESEARCH INSTITUTE, SOM ANGIVET I *Performance Tested MethodsSM* CERTIFIKATNUMMER 100503.

REAGENSER

BBL CHROMagar Staph aureus

Omtrentlig formel* pr. liter rensset vand

Chromopepton	40,0 g
Natriumchlorid	25,0 g
Chromogen blanding	0,5 g
Hæmmende stoffer	0,07 g
Agar	14,0 g

pH: 6.8 +/- 0.2

*Justeret og/eller suppleret som påkrævet for at opfylde funktionskriterier.

FORHOLDSREGLER

IVD . Kun til professionel brug. 

Hvis der observeres overdreven fugtighed, inverteres bunden over et forskudt låg til lufttørring for at forhindre, at der dannes en forsegling mellem toppen og bunden af pladen under inkubation. Beskyt mod lys under tørring. Se **OPBEVARING OG HOLDBARHED**.

Pladerne må ikke anvendes, hvis de viser tegn på mikrobiel kontaminering, misfarvning, udtørring, brud eller andre tegn på forringelse.

Patogene mikroorganismer, herunder hepatitisvira og humant immundefekt virus, kan forekomme i kliniske præparater. Standardforholdsregler⁷⁻¹⁰ og institutionelle retningslinier skal overholdes ved håndtering af alle materialer, der er kontamineret med blod og andre legemsvæsker.

Overhold aseptiske teknikker og fastlagte forholdsregler imod mikrobiologiske farer under alle procedurer.

Efter brug skal præparerede plader, prøvebeholdere og andre kontaminerede materialer steriliseres ved autoklavering, inden de kasseres.

Læs dokumentet **GENEREL BRUGSANVISNING** for procedurer om aseptisk håndtering, biologiske farer og bortskaffelse af brugte produkter.

OPBEVARING OG HOLDBARHED

Pladerne opbevares efter modtagelse i mørke ved 2 – 8 °C i deres originale hylsterindpakning, lige indtil de skal bruges. Undgå nedfrysning og overophedning. Pladerne kan inokuleres op til udløbsdatoen (se etiketten på pakken) og inkuberes i de anbefalede inkubationstider.

Plader fra åbnede stabler med 10 plader kan bruges i en uge, når de opbevares i et rent område ved 2 – 8 °C.

BRUGERKVALITETSKONTROL

Undersøg effektiviteten ved at inokulere en repræsentativ prøve af plader med rene dyrkninger af stabile kontrolorganismer, som producerer kendte, ønskede reaktioner (se dokumentet

GENEREL BRUGSANVISNING for detaljer). Teststammerne nævnt i tabellen nedenfor anbefales. Inkubér aerobt i 18 til 24 h ved 35 ± 2 °C i mørke.

Stammer	Vækstresultater
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Vækst, grålige kolonier
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> ATCC 15305	Vækst, grønne til blågrønne kolonier
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Hæmning (delvis til fuldstændig)
Ikke-inokuleret	Farveløs til let ravfarvet, klar til let tåget

Krav til kvalitetskontrol skal udføres i overensstemmelse med gældende lokale og/eller nationale regulativer eller akkrediteringskrav samt laboratoriets standardkvalitetskontrolprocedurer. Det anbefales, at den kliniske bruger henviser til relevante Clinical and Laboratory Standards Institute (tidligere NCCLS)-retningslinjer mht. passende kvalitetskontrolprocedurer.

PROCEDURE

Vedlagte materialer

BBL CHROMagar Staph aureus, leveret i 90 mm **Stacker** skåle

Nødvendige materialer, der ikke er vedlagt: Hjælpedyrkningsmedier, reagenser, organismer til kvalitetskontrol og andet nødvendigt laboratorieudstyr.

Præparattyper

Yderligere oplysninger om metoder til prøveindsamling og -håndtering findes i relevante tekster eller standarder. Dette medium anvendes til isolering af *Staphylococcus aureus* fra alle typer kliniske præparater. Se også **FUNKTIONSDATA OG PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER**. Ved landbrugsfødevaretestning skal passende standardmetoder følges for detaljer mht. prøvepræparering og behandling iflg. prøvetype og geografisk lokalitet.

Testprocedure

Overhold aseptisk teknik. Agaroverfladen skal være glat og fugtig, men uden overdreven fugt. Kliniske præparater skal inokuleres på en **BBL CHROMagar Staph aureus** plade snarest muligt efter modtagelse på laboratoriet og udstryges for isolation. Hvis præparatet dyrkes fra en podepind, rulles podepinden forsigtigt over et lille område på overfladen ved kanten, stryg dernæst ud fra dette område med en løkke. Inkubér plader aerobt ved $35 \pm 2^\circ\text{C}$ i 20-24 h i inverteret position (med agarsiden opad).

For fødevareprøver skal de passende referencematerialer rådføres, og gældende standardmetoder følges. Brug udstrykningspladeteknikken til at inokulere de homogeniserede fødevareprøver på **BBL CHROMagar Staph aureus**. Inkubér plader aerobt ved $35-37^\circ\text{C}$ i 20-28 timer i inverteret position (med agarsiden opad).

RESULTATER

Efter passende inkubation læses pladerne imod en hvid baggrund. *S. aureus* vil producere grållille til orange/grållilla kolonier på **BBL CHROMagar**-mediet. Hvis de ikke hæmmes, vil de fleste Gram-positive organismer producere blå, blågrønne eller naturligt farvede (farveløse, hvide eller cremefarvede) kolonier. Gram-negative organismer og gær hæmmes helt eller delvist.

FUNKTIONSDATA OG PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER

Præstationsresultater¹²

Klinisk testning

1. Ved en feltundersøgelse på et stort hospital i en storby i USA blev 201 hals- og spytpreparater fra patienter med cystisk fibrose og 459 nasalpræparater fra andre hospitalpatienter evalueret på **BBL CHROMagar Staph aureus**. **BBL CHROMagar Staph aureus** blev sammenlignet med blodagar eller Mannitolsaltagar med isolat-konfirmation ved coagulase-objektglas. *S. aureus* blev isoleret fra 190 kombinerede præparater. **BBL CHROMagar Staph aureus** påviste yderligere 9 *S. aureus* positive kulturer, der ikke kunne isoleres på konventionelle medier. Efter 24 timers inkubation blev der også observeret fire potentielt falsk-positive på **BBL CHROMagar Staph aureus** mediet: To korynebakterier og to coagulase-negative stafylokokker. **BBL CHROMagar Staph aureus** gav en samlet sensitivitet på 99,5 % og en specificitet på 99,2 %.¹¹

2. I en europæisk undersøgelse blev ethundredogfemogtres (165) præparater fra et rutinelaboratorium, som bestod af 100 kendte positive præparater og 65 kendte negative præparater, strøget på **BBL CHROMagar Staph aureus**, Mannitol saltagar og Columbia agar med 5 % fåreblod. Præparattyperne vises i tabel 1. Pladerne blev inkuberet i 20 til 24 timer ved 35 til 37 °C og blev aflæst for kolonier mistænkt for *S. aureus*. Koagulasetest i prøveglas blev opstillet fra alle mistænkelige kolonier på alle tre medier. Endvidere blev vækstmængden af *S. aureus* (scores semikvantitativt) bestemt.

Tabel 1: Præparattyper

Præparattyper	<i>S. aureus</i> kendte positive præparater	<i>S. aureus</i> kendte negative præparater
Abscesser	14	6
Ascitesvæske	1	0
Knogle	1	0

Bursa	1	0
Kateter	4	0
Drænage	1	0
Fistel	0	1
Kirurgiske præparater	12	15
Diverse podede	12	19
Phlegmona	1	0
Tracheasekretioner	1	0
Sår	52	24
I alt	100	65

Resultater: Af de 165 præparater gav 100 vækst af *S. aureus* på alle medier, som bekræftet med koagulasetestning fra alle medier.

På **BBL CHROMagar Staph aureus** gav 100 præparater vækst af *S. aureus*, på Mannitol saltagar gav 91 *S. aureus* og på Columbia agar sammen med koagulasetestning var 98 præparater positive for *S. aureus*. Der var én falsk positiv på **BBL CHROMagar Staph aureus**, som viste sig at være *Streptococcus agalactiae*. Ved genstrykning af stammen på **BBL CHROMagar Staph aureus** blev kolonierne violette frem for rosa til grållilla.

Der var 5 kulturer blandt de kendte negative præparater med violette eller lilla kolonier, som lignede farven på *S. aureus*. De var dog lette for aflæseren, som ikke er så bekendt med kolonifarverne på de forskellige arter, der vokser på mediet (hun blev kun givet en oversigt over farver og organismer på mediet inden start af undersøgelsen), at differentiere fra *S. aureus* kolonier (= rosa til grållilla).

Sensitiviteterne af **BBL CHROMagar Staph aureus** (baseret på rosa til grållilla kolonifarve), Mannitol saltagar (baseret på gul mediefarve) og Columbia agar (vækst af typiske *S. aureus* kolonier sammen med koagulasetestning) var 100 %, 91 % og 98 %. Specificiteten af **CHROMagar Staph aureus** var 98,5 %.

På **BBL CHROMagar Staph aureus** var vækststyrken betydeligt oftere højere end på MSA ($p = 0,05$). Se tabel 2.

BBL CHROMagar Staph aureus kan anvendes til en stor mængde præparater.

Tabel 2: Vækststyrke af *S. aureus* isolater på CSA* sammenlignet med MSA*

	Vækststyrke					
	CSA = Col	CSA > Col	Col > CSA	CSA = MSA	CSA > MSA	MSA > CSA
Antallet af præparater	74	12	14	74	18**	8

* CSA, **CHROMagar Staph aureus**; MSA, Mannitol saltagar; Col, Columbia agar med 5 % fåreblod

** forskel statistisk signifikant ($p = 0,05$)

Landbrugsfødevaretestning

BBL CHROMagar Staph aureus er blevet godkendt af AOAC Research Institute Performance Tested Methods-programmet. Mediet blev evalueret for isolering og optælling af *S. aureus* i tilberedt oksekød, røget laks og rigtige æg af såvel et eksternt referencelaboratorium som internt hos BD. Isolering og optælling af *S. aureus* på **BBL CHROMagar Staph aureus** blev sammenlignet med AOAC og ISO referenceplademediet Baird-Parker agar med anvendelse af de anbefalede diluenter ved lave, middel og høje inokulumniveauer af *S. aureus*. Baseret på en statistisk analyse blev der ikke fundet nogen signifikant forskel mellem referencemetoderne og **BBL CHROMagar Staph aureus**-metoden for nogen af fødevaretyperne eller kontamineringsniveauerne med undtagelse af en lavniveau-prøve med røget laks. Det lave kontamineringsniveau af røget laks udviste en statistisk forskel ved en intern test, der anvendte ISO-metoden, dvs. at **BBL CHROMagar Staph aureus**-metoden isolerede flere kolonier ved 24 timer ($\log_{10} = 2,04$) end ISO-referencen ved 48 timer ($\log_{10} = 1,64$). **BBL CHROMagar Staph aureus**-metodens præcisionsestimater for repeterbarhed var tilfredsstillende. Korrelationskoefficienterne varierede fra 92,6 % til 99,4 % og påviste en god korrelation for alle kontamineringsniveauer i alle fødevaretyper. Data er

sammenfattet i tabel 1 og 2. Med brug af **BBL CHROMagar Staph aureus** blev der ikke isoleret falske positive kolonier fra fødevarerematerierne. Alle grålige kolonier blev uden afvigelser bekræftet som *S. aureus*. Man evaluerede endvidere 30 stammer af *S. aureus*, herunder kendte enterotoxin-producerende stammer og 37 isolater uden *S. aureus* på **BBL CHROMagar Staph aureus** med såvel følsomhed som specificitet på 100 %.¹¹

Tabel 1. Oversigt over eksterne AOAC- og ISO-test af tilberedt oksekød og rigtige æg¹⁻³

Tabel 2: Overlappende resultater fra AOAC og ISO test af tilberedt oksekød og rigtige æg				
	Inokulum-niveau	Parret t-test eller One-way ANOVA ^a	Repeterbarhed (standardafvigelse) ^b	Kvadratet på den lineære korrelationskoefficient
Tilberedt oksekød	Lav	Ikke signifikant	0,398	96,0 %
	Middel	Ikke signifikant	0,04	
	Høj	Ikke signifikant	0,062	
Rigtige æg	Lav	Ikke signifikant	0,302	95,5 %
	Middel	Ikke signifikant	0,089	
	Høj	Ikke signifikant	0,143	
ISO				
	Inokulum-niveau	Parret t-test eller One-way ANOVA ^a	Repeterbarhed (standardafvigelse) ^b	Kvadratet på den lineære korrelationskoefficient
Tilberedt oksekød	Lav	Ikke signifikant	0,315	94,6 %
	Middel	Ikke signifikant	0,045	
	Høj	Ikke signifikant	0,117	
Rigtige æg	Lav	Ikke signifikant	0,341	92,6 %
	Middel	Ikke signifikant	0,223	
	Høj	Ikke signifikant	0,135	

Fodnoter. Se Tabel 2

Tabel 2. Oversigt over interne og eksterne AOAC- og ISO-test af røget laks

	Inokulum-niveau	Parret t-test eller One-way ANOVA ^a		Repeterbarhed (standardafvigelse) ^b		Kvadratet på den lineære korrelationskoefficient	
AOAC røget laks	Lav	Ikke signifikant	Ikke signifikant	0,132	0,271	99,4 %	93,2 %
	Middel	Ikke signifikant	Ikke signifikant	0,055	0,095		
	Høj	Ikke signifikant	Ikke signifikant	0,064	0,161		
ISO røget laks	Lav	Ikke signifikant	Signifikant ^d	0,158	0,227	98,7 %	97,4 %
	Middel	Ikke signifikant	Ikke signifikant	0,135	0,165		
	Høj	Ikke signifikant	Ikke signifikant	0,116	0,033		

a Parret t-test og one-way ANOVA-analyse brugt til evaluering af sammenlignelig ydelse af **BBL CHROMagar Staph aureus** kontra referencemediet ved sammenligning af log₁₀ for kolonitællingerne.

b Repeterbarhed viser, at **BBL CHROMagar Staph aureus** producerer sammenlignelige resultater mellem test udført med samme materialer og metode.

c Kvadratet på den lineære korrelationskoefficient anvendes til at evaluere præcisionen af kvantitative metoder for forskellige *S. aureus*-tællinger.

d **BBL CHROMagar Staph aureus** isolerede flere kolonier end ISO-referencemetoden.

Procedurens begrænsninger

En gang imellem producerer visse andre stafylokok-stammer end *S. aureus*, f.eks. *S. cohnii*, *S. intermedius* og *S. schleiferi* samt korynebakterier og gær, muligvis grålige-farvede kolonier ved 24 timer.¹¹ Differentiering af *S. aureus* fra non-*S. aureus* kan udføres med koagulase, andre biokemiske metoder eller Gram-farvning. Resistente Gram-negative baciller, der typisk forekommer som små blå kolonier, bryder muligvis også igennem.

Inkubation ud over 24 timer (klinisk) og 28 timer (fødevarer) anbefales ikke på grund af et øget antal mulige falsk positive. Hvis inkubationstiden overskrides, skal grållilla kolonier bekræftes, før de rapporteres som *S. aureus*.

Kortere inkubation end de anbefalede 20 timer medfører muligvis, at man opnår en mindre procentdel korrekte resultater.

Det naturlige gyldne pigment af visse *S. aureus*-stammer kan få kolonifarven til at fremtræde orange-grållilla.

LITTERATUR

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. Data i arkiv, BD Diagnostic Systems.

EMBALLERING/BESTILLING

REF 257074	Plademedier klar til brug, cpu 20
REF 257099	Plademedier klar til brug, cpu 120

YDERLIGERE OPLYSNINGER

Kontakt den lokale BD repræsentant angående yderligere oplysninger.



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 is a service mark of AOAC International.
CHROMagar is a trademark of Dr. A. Rambach.
Difco is a trademark of Difco Laboratories, 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