



BD BBL CHROMagar Staph aureus



BRUKSOMRÅDE

BBL CHROMagar Staph aureus er et selektivt medium for isolering, kvantitering og identifisering av *Staphylococcus aureus* fra kliniske prøver og matvareprøver. Konfirmerende tester av typiske isolater fra kliniske prøver er ikke påkrevd.

BBL CHROMagar Staph aureus (ferdiglagd agarskål) er godkjent av AOAC Research Institute under Performance Tested MethodsSM Program for analyse av egg med skall, røkelaks og ferdiglaget roast beef med AOAC- og ISO-metodene.^{1,2} Konfirmerende tester av rosa-lillafargede kolonier fra matvarematrisene nevnt ovenfor, er påkrevd.

PROSEDYRENS PRINSIPPER OG FORKLARING

Mikrobiologisk metode.

S. aureus er et veldokumentert patogen. Det forårsaker infeksjoner som strekker seg fra overfladiske til systemiske.^{3,4} På grunn av utbredelsen av denne organismen og de kliniske implikasjonene, er påvisning av største viktighet.

Matforgiftning fra stafylokokker forårsaket av *S. aureus*, er en av de vanligste, matbårne sykdomstypene verden over. Påvisning og kvantitering hjelper med å gi informasjon om den potensielle helsefaren fra mat, i tillegg til at dette er en indikator på dårlig hygiene.⁵ Det anbefales også at denne organismen brukes som en indikator for vannkvalitet.⁶

BBL CHROMagar Staph aureus er ment for isolering, kvantitering og identifisering av *S. aureus*, basert på dannelsen av rosa-lilla kolonier. Tilsetning av kromogene substrater til mediet gjør det mulig å differensiere *S. aureus* fra andre organismer.

En fordel **BBL CHROMagar Staph aureus** har over tradisjonelle medier, som Baird-Parker Agar, er muligheten for identifisering av *S. aureus* på 24 timer i stedet for 48 timer.

BBL CHROMagar Staph aureus ble opprinnelig utviklet av A. Rambach, CHROMagar i Paris, Frankrike. BD har, under lisensavtale, optimalisert denne oppskriften ved å dra nytte av egen åndsrett, til bruk for produksjon av den ferdiglagde agarskålen **BBL CHROMagar Staph aureus**. Spesielt utvalgte **Difco** -peptoner tilfører næringsstoffene. Tilsetning av selektive stoffer hemmer veksten av gram-negative organismer, gjærsopp og enkelte gram-positive kokker.

Kromogenblandingen består av syntetiske substrater (kromogener), som slipper ut en ikke-løselig sammensetning når den hydrolyseres av spesifikke enzymer. Dette forenkler påvisning og differensiering av *S. aureus* fra andre organismer. *S. aureus* bruker ett av de kromogene substratene, og produserer kolonier med rosa-lilla farge. Veksten av kolonier med rosa-lilla farge ved 24 timer, anses som positiv for *S. aureus* på **BBL CHROMagar Staph aureus**. Andre bakterier enn *S. aureus* kan bruke andre kromogene substrater som resulterer i blå, blågrønne, eller hvis det ikke brukes kromogene substrater, nøytralt fargede kolonier.

*PRODUSENTLEVERTE PRØVER AV DENNE TESTKITMODELLEN ER UAVHENGIG EVALUERT AV AOAC RESEARCH INSTITUTE, OG BLE FUNNET Å FUNGERE I SAMSVAR MED PRODUSENTENS SPESIFIKASJONER, SOM ANGITT I DET BESKREVNE PAKNINGSVEDLEGGET FOR TESTKITSET. PRODUSENTEN SERTIFISERER DETTE KITSET FOR ALLE OMSTENDIGHETER NÅR DET GJELDER SPESIFIKASJONENE SOM OPPRINNELIG BLE EVALUERT AV AOAC RESEARCH INSTITUTE, SOM ANGITT I Performance Tested MethodsSM, SERTIFIKATNUMMER 100503.

REAGENSER

BBL CHROMagar Staph aureus

Omtrentlig sammensetning* per liter renset vann

Kromopepton	40,0 g
Natriumklorid	25,0 g
Kromogenblanding	0,5 g
Hemmende midler	0,07 g
Agar	14,0 g

pH: 6,8 +/- 0,2

*Justert og/eller tilsatt som påkrevd for å oppfylle funksjonskriteriene.

FORHOLDSREGLER

IVD. Kun til profesjonelt bruk. 

Dersom det dannes for mye fuktighet, skal bunnen snus og plasseres halvveis over et lokk, for å la den lufttørke. Dette for å unngå dannelse av et tett lag mellom toppen og bunnen av skålen under inkuberingen. Skal beskyttes mot lys under tørking.

Se **OPPBEVARING OG HOLDBARHET**.

Agarskålene må ikke anvendes dersom de viser tegn til mikrobiell kontaminering, misfarging, uttørking, sprekkdannelse eller andre tegn til svekkelse.

Patogene mikroorganismer, blant annet hepatittvirus og humant immunsviktvirus (HIV), kan forekomme i kliniske prøver. Standard forsiktighetsregler⁸⁻¹⁰ og institusjonsretningslinjene skal følges ved håndtering av alle materialer som er kontaminert med blod og andre kroppsvæsker. Bruk aseptiske teknikker og etablerte forholdsregler mot mikrobiologiske farer under alle prosedyrene.

Alle ferdiglagde agarskåler, prøvebeholdere og annet kontaminert materiale må steriliseres ved autoklaving etter bruk før de kastes.

Se dokumentet **GENERELLE BRUKSANVISNINGER** for aseptiske håndteringsprosedyrer, biologiske farer og avhending av brukte produkter.

OPPBEVARING OG HOLDBARHET

Agarskålene oppbevares etter mottak i originalinnpakningen på et mørkt sted med temperatur fra 2 til 8 °C, inntil de skal brukes. Unngå frost og overopphetning. Agarskålene kan inokuleres frem til utløpsdatoen (se etiketten på pakken) og inkuberes i de anbefalte inkubasjonstider. Agarskåler fra åpne stabler på 10 skåler kan brukes i én uke når de oppbevares på et rent sted med temperatur på 2 til 8 °C.

BRUKERKVALITETSKONTROLL

Sjekk funksjonen ved å inokulere et representativt utvalg av skåler med renkulturer av stabile kontrollorganismer som produserer kjente, ønskede reaksjoner (se dokumentet **GENERELLE BRUKSANVISNINGER** for detaljer). Teststammene som nevnes i tabellen nedenfor, anbefales. Inkuber aerobt i 18 til 24 timer ved 35 ± 2 °C på et mørkt sted.

Stammer	Vekstresultater
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Vekst – rosa-lilla kolonier
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> ATCC 15305	Vekst – grønne til blågrønne kolonier
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Hemming (delvis til fullstendig)
Ikke-inokulert	Fargeløs til lys ravgul, klar til spor av uklarhet

Kvalitetskontrollkravene må utføres i samsvar med gjeldende lokalt og/eller nasjonalt regelverk, eller akkrediteringskravene og laboratoriets standardprosedyrer for kvalitetskontroll. Det anbefales at kliniske brukere refererer til relevante retningslinjer for gjeldende kvalitetskontrollpraksis fra Clinical and Laboratory Standards Institute (tidligere NCCLS).

PROSEDYRE

Materialer som følger med

BBL CHROMagar Staph aureus, leveres i 90 mm **Stacker**-skåler

Nødvendige materialer som ikke følger med: Supplerende vekstmedier, reagenser, kvalitetskontrollorganismer og laboratorieutstyr etter behov.

Prøvetyper

Se vedkommende tekster eller standarder for detaljer om prøver/prøveinnsamling og håndteringsprosedyrer. Dette mediet brukes for isolering av *Staphylococcus aureus* fra alle typer kliniske prøver. Se også **FUNKSJONSDATA OG PROSEDYRENS BEGRENSNINGER**.

For testing av landbruksmatvarer skal gjeldende standardmetoder for detaljer om prøveforberedelse og -behandling følges i henhold til prøvetypen og geografisk sted.

Testprosedyre

Bruk aseptiske teknikker. Agar-overflaten skal være jevn og fuktig, men uten for mye fuktighet. Så snart som mulig etter at kliniske prøver mottas av laboratoriet, skal de inokuleres på en **BBL CHROMagar Staph aureus**-skål, og strykes ut for isolering. Hvis prøven kultiveres fra en bomullspinne, kan den rulles varsomt over et lite område av agaroverflaten ved kanten av skålen, og deretter strykes ut fra dette området med en øse. Inkuber skålene aerobt ved 35 ± 2 °C i 20 – 24 timer, i snudd stilling (agar-siden opp).

Se gjeldende referanser og følg gjeldende standardmetoder for matvareprøver. Inokuler de homogeniserte matvareprøvene på **BBL CHROMagar Staph aureus** med spredningsplateteknikken. Inkuber skålene aerobt ved 35 – 37 °C i 20 – 28 timer, i snudd stilling (agar-siden opp).

Resultater

Etter korrekt inkubering skal skålene avleses mot en hvit bakgrunn. *S. aureus* vil produsere kolonier med rosa-lilla til oransje/mørk lilla farger på **BBL CHROMagar**-mediet. De fleste gram-positive organismer, dersom de ikke er hemmet, vil produsere kolonier med blå, blågrønne eller naturlig farge (fargeløs, hvit eller kremfarget). Gram-negative organismer og gjærsopp vil være delvis til fullstendig hemmet.

FUNKSJONSDATA OG PROSEDYRENS BEGRENSNINGER

Funksjonssresultater¹²

Klinisk testing

1. I en feltundersøkelse som ble utført ved et stort sykehus i en amerikansk storby, ble 201 svelg- og oppspyttprøver fra pasienter med cystisk fibrose og 459 prøver fra nesen på andre sykehuspasienter evaluert på **BBL CHROMagar Staph aureus**. **BBL CHROMagar Staph aureus** ble sammenlignet med blodagar eller Mannitol Salt Agar, med isolatbekrefting med slide-koagulase. *S. aureus* ble påvist i 190 kombinerte prøver. **BBL CHROMagar Staph aureus** påviste ytterligere 9 *S. aureus* positive kulturer som ikke ble påvist på konvensjonelle medier. Fire potensielt falske positiver ble også funnet på mediet **BBL CHROMagar Staph aureus** etter 24 timers inkubering: to korynebakterier og to koagulase-negative stafylokokker. **BBL CHROMagar Staph aureus** produserte en sensitivitet på 99,5 % og en spesifisitet på 99,2 %.¹¹
2. I en europeisk undersøkelse ble ett hundre og sekstifem (165) prøver fra et rutinelaboratorium, bestående av 100 prøver med påvist *S. aureus* fra standardmetoder (= kjente positive prøver) og 65 kjente negative prøver, strøket ut på **CHROMagar Staph aureus**, Mannitol Salt Agar og Columbia Agar med 5 % saueblod. Prøvetypene er vist i tabell 1. Skålene ble inkubert i 20 til 24 timer ved 35 til 37 °C, og ble lest av for *S. aureus* – mistenkelige kolonier. Koagulase-tester i rør ble satt opp med alle mistenkelige kolonier på alle tre mediene. I tillegg ble mengden av *S.aureus*-vekst bestemt (semi-kvantitativt).

Tabell 1: Prøvetyper

Prøve-typer	Kjente, positive <i>S. aureus</i> -prøver	Kjente, negative <i>S. aureus</i> -prøver
Abscesser	14	6
Ascites-væske	1	0
Bein	1	0
Slimhinnepose	1	0
Kateter	4	0
Drenering	1	0
Fistel	0	1
Operasjonsprøver	12	15
Diverse bomullspinneprøver	12	19
Phlegmon	1	0
Trakeal-sekreter	1	0
Sår	52	24
Sum	100	65

Resultater: Av de 165 prøvene viste 100 vekst av *S. aureus* på hvilket som helst medium, som bekreftet med koagulase-testing fra alle mediene.

På **CHROMagar Staph aureus** viste 100 prøver vekst av *S. aureus*; på Mannitol Salt Agar, viste 91 *S. aureus*; på Columbia Agar, sammen med koagulase-testing, var 98 prøver positive for *S. aureus*. Det ble funnet ett falskt positivt resultat på **CHROMagar Staph aureus**, som viste seg å være *Streptococcus agalactiae*. Etter at stammen ble strøket ut på nytt på **CHROMagar Staph aureus**, var koloniene fiolette i stedet for rosa til lilla.

Blant de kjente, negative prøvene, fantes det 5 kulturer med fiolette eller lilla kolonier, som lignet på *S. aureus* i farge. Disse kunne imidlertid lett differensieres fra *S. aureus*-kolonier(=rosa til lilla) av avleseren, som ikke var særlig kjent med kolonifargene for de ulike artene som vokser på mediet (bare en oppsummering av fargene og organismene som oppstår på mediet ble gitt henne før undersøkelsen startet).

Følsomhetene for **CHROMagar Staph aureus** (basert på rosa-lilla kolonifarge), Mannitol Salt Agar (basert på kolonier som var omgitt av gult medium), og Columbia Agar (vekst av typiske *S. aureus*-kolonier sammen med koagulase-testing) var på 100 %, 91 % og 98 %. Spesifisiteten for **CHROMagar Staph aureus** var 98,5 %.

På **CHROMagar Staph aureus** var vekstintensiteten vesentlig ofte høyere enn på MSA ($p = 0,05$); se tabell 2.

CHROMagar Staph aureus kan brukes for et bredt utvalg av prøver.

Tabell 2: Vekstintensiteten for *S. aureus*-isolater på CSA*, sammenlignet med MSA*

	Vekstintensitet					
	CSA = Col	CSA > Col	Col > CSA	CSA = MSA	CSA > MSA	MSA > CSA
Antall prøver	74	12	14	74	18**	8

* CSA, **CHROMagar Staph aureus**; MSA, Mannitol Salt Agar; Col, Columbia Agar med 5 % saueblod

** forskjellen er statistisk signifikant ($p = 0,05$)

Testing av landbruksmatvarer

BBL CHROMagar Staph aureus ble godkjent av AOAC Research Institute under Performance Tested Methods Program. Mediet ble evaluert av et eksternt referanselaboratorium, i tillegg til internt hos MD, for funn og kvantitering av *S. aureus* i ferdiglaget roast beef, røkelaks og hele egg. Funnene og kvantiteringen av *S. aureus* på **BBL CHROMagar Staph aureus** ble sammenlignet med referansemediene fra AOAC og ISO, Baird-Parker Agar, med anbefalte diluenter ved lave, middels og høye inokulatnivåer for *S. aureus*. Etter 24 timers inkubering ble det utført kvantitering på **BBL CHROMagar Staph aureus**, og etter 48 timer på Baird-Parker Agar. Basert på statistisk analyse ble det ikke funnet vesentlige forskjeller mellom referansemetodene og **BBL CHROMagar Staph aureus**-metoden for noen matvaretype eller kontamineringsnivå,

med unntak for en røkelaksprøve med lavt nivå. Det lave kontamineringsnivået for røkelaks viste en statistisk forskjell i intern testing med ISO-metoden dvs.

BBL CHROMagar Staph aureus-metoden frembrakte flere kolonier etter 24 timer ($\log_{10} = 2,04$) enn ISO-referansen etter 48 timer ($\log_{10} = 1,64$). Presisjonsestimatene for reproduserbarheten på **BBL CHROMagar** Staph aureus-metoden var tilfredsstillende. Korrelasjonskoeffisientene var i området fra 92,6 % til 99,4 %, noe som viser god korrelasjon for alle kontamineringsnivåer i alle matvaretyper. Dataene er oppsummert i tabellene 1 og 2. Ingen falsk positive kolonier ble frembrakt fra matvarematrisene med **BBL CHROMagar** Staph aureus. Alle rosa-lilla kolonier ble bekreftet som *S. aureus*, uten avvik. I tillegg ble 30 stammer med *S. aureus*, inkludert kjente enterotoksin-produserende stammer og 37 non-*S. aureus*-isolater evaluert til å gi både følsomhet og spesifisitet på 100 % med **BBL CHROMagar** Staph aureus.¹¹

Tabell 1. Oppsummering av AOAC og ISO ekstern testing av ferdiglaget roast beef og hele egg¹⁻³

Egg

		AOAC		
	Inokuleringsnivå	Paret t-test eller enveis-ANOVA ^a	Reproduserbarhet (standardavvik) ^b	Kvadratet av lineær korrelasjons- koeffisient ^c
Ferdiglaget roast beef	Lav	Ikke signifikant	0,398	96,0 %
	Middels	Ikke signifikant	0,04	
	Høy	Ikke signifikant	0,062	
Hele egg	Lav	Ikke signifikant	0,302	95,5 %
	Middels	Ikke signifikant	0,089	
	Høy	Ikke signifikant	0,143	
		ISO		
	Inokuleringsnivå	Paret t-test eller enveis-ANOVA ^a	Reproduserbarhet (standardavvik) ^b	Kvadratet av lineær korrelasjons- koeffisient ^c
Ferdiglaget roast beef	Lav	Ikke signifikant	0,315	94,6 %
	Middels	Ikke signifikant	0,045	
	Høy	Ikke signifikant	0,117	
Hele egg	Lav	Ikke signifikant	0,341	92,6 %
	Middels	Ikke signifikant	0,223	
	Høy	Ikke signifikant	0,135	

Fotnoter, se tabell 2

Tabell 2. Oppsummering av AOAC og ISO ekstern og intern testing av røkelaks

	Inokulering snivå	Paret t-test eller enveis-ANOVA ^a		Reproduserbarhet (standardavvik) ^b		Kvadratet av lineær korrelasjonskoeffisient ^c	
AOAC røkelaks	Lav	Ikke signifikant	Ikke signifikant	0,132	0,271	99,4 %	93,2 %
	Middels	Ikke signifikant	Ikke signifikant	0,055	0,095		
	Høy	Ikke signifikant	Ikke signifikant	0,064	0,161		
ISO røkelaks	Lav	Ikke signifikant	Signifikant ^d	0,158	0,227	98,7 %	97,4 %
	Middels	Ikke signifikant	Ikke signifikant	0,135	0,165		
	Høy	Ikke signifikant	Ikke signifikant	0,116	0,033		

a Paret t-test og enveis ANOVA-analyse brukes til å evaluere sammenligbar ytelse for **BBL CHROMagar** Staph aureus med referansemediet ved å sammenligne gjennomsnittet for $\log_{10}$ av kolonitall.

b Reproduserbarheten viser at **BBL CHROMagar** Staph aureus gir sammenligbare resultater mellom tester kjørt på samme materiale og med samme metode.

c Kvadratet av lineær korrelasjonskoeffisient brukes for å evaluere presisjonen ved kvantitative metoder over ulike *S. aureus* -telling.

d **BBL CHROMagar** Staph aureus gjenfant flere kolonier enn ISO-referansemetoden.

Prosedyrens begrensninger

Av og til kan enkelte andre stammer av stafylokokker enn *S. aureus*, som: *S. cohnii*, *S. intermedius*, og *S. schleiferi*, i tillegg til koryne-bakterier og gjærsopper, produsere rosa-lilla kolonier etter 24 timer.¹¹ Differensiering av *S. aureus* fra non-*S. aureus* kan oppnås ved koagulase, andre biokjemiske tester eller Gram-farging. Resistente, gram-negative bakterier, som vanligvis vises som små, blå kolonier, kan også bryte gjennom.

Inkubering ut over 24 timer (klinisk) og 28 timer (matvare) anbefales ikke, dette på grunn av økning i potensielt falske positive. Dersom inkubasjonstiden overstiges, må rosa-lilla kolonier konfirmeres før de rapporteres som *S. aureus*.

Inkubering over kortere tid enn de anbefalte 20 timene, kan resultere i at det oppnås lavere prosentandel av korrekte resultater.

På grunn av det naturlige, gylne pigmentet for enkelte *S. aureus*-stammer, kan koloniene vises som oransje/rosa.

REFERANSER

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 koagulase-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. Toranzo, 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. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. 2nd ed., NCCLS, Wayne, Pa.
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.

EMBALLASJE/BESTILLING

REF 257074 Ferdiglagde agarskåler, stk.

REF 257099 Ferdiglagde agarskåler, 120 stk.

YTTERLIGERE INFORMASJON

Kontakt din lokale BD-representant for ytterligere informasjon.



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