BD BBL CHROMagar Staph aureus

PERFORMANCE TESTED AOAC RESEARCH INSTITUTE LICENSE NUMBER 100503

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

BBL CHROMagar Staph aureus е селективна среда за изолиране, преброяване и идентифициране на *Staphylococcus aureus* от клинични и хранителни източници. Потвърждаващо тестуване на типичните изолати от клинични източници не се изисква. **BBL CHROMagar Staph aureus** (готова среда в чашки) е утвърдена от научно-изследователския институт AOAC по програмата Проверени методи за работа за анализ на натурални яйца, пушена сьомга и приготвен ростбиф с използване на методите на AOAC и ISO.[1,2] Изисква се потвърждаващо тестуване на розоволилави колонии, получени от описаните по-горе хранителни матрици.

ПРИНЦИПИ И ОБЯСНЕНИЕ НА ПРОЦЕДУРАТА

Микробиологичен метод.
S. aureus е добре документиран патоген. Той е отговорен за широк кръг инфекции, от повърхностни до общи.[3,4] Поради широката разпространеност на този организъм и неговите клинични импликации откриването му е от особено голямо значение. Стафилококовото хранително отравяне, причинено от *S. aureus,* е едно от най-разпространените хранителни разстройства в света. Неговото откриване и преброяване помага за предоставянето на информация относно потенциално рискови за здравето храни, като в същото време е индикатор за слаба хигиена.[5] Препоръчва се също този организъм да се използва като индикатор за качеството на вода.[6]
BBL CHROMagar Staph aureus е предназначена за изолиране, преброяване и идентифициране на *S. Aureus* въз основа на образуване на колонии с розоволилав цвят. Добавянето на хромогенни субстрати към средата улеснява диференцирането на *S. aureus* от други организми.
Преимуществото на **BBL CHROMagar Staph aureus** по отношение на някои традиционни среди, като Baird-Parker Agar е възможността за идентифициране на *S. aureus* за 24 вместо 48 часа.

BBL CHROMagar Staph aureus първоначално е разработена от A. Rambach, CHROMagar, Париж, Франция. BD, по лицензионно споразумение, оптимизира тази формула използвайки патентована интелектуална собственост, използвана при производството на готова среда в чашки **BBL CHROMagar Staph aureus**. Специално подбрани пептони **Difco** доставят хранителните вещества. Добавянето на селективни агенти инхибира растежа на грамотрицателни организми, дрожди и някои грамположителни коки. Хромогенната смес се състои от изкуствени субстрати (хромогени), които освобождават неразтворимо оцветено съединение при хидролизирането им от специфични ензими. Това улеснява откриването и диференцирането на *S. aureus* от други организми. *S. aureus* използва един от хромогенните субстрати, произвеждайки колонии с розоволилав цвят. Растеж на розоволилави колонии за 24 ч. се разглежда като положителен резултат за *S. aureus* в **BBL CHROMagar Staph aureus.**

*ДОСТАВЯНИТЕ ОТ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ ОБРАЗЦИ НА ТОЗИ МОДЕЛ ТЕСТОВ КОМПЛЕКТ БЯХА НЕЗАВИСИМО ОЦЕНЕНИ ОТ НАУЧНО-ИЗСЛЕДОВАТЕЛСКИЯ ИНСТИТУТ AOAC КАТО ПРИГОДНИ ЗА ОСЪЩЕСТВЯВАНЕ НА СПЕСИФИКАЦИИТЕ НА ПРОИЗВОДИТЕЛЯ, ПОСОЧЕНИ В ЛИСТОВКИТЕ С ОПИСАНИЕ НА ТЕСТОВИЯ КОМПЛЕКТ. ПРОИЗВОДИТЕЛЯТ УДОСТОВЕРЯВА, ЧЕ НАСТОЯЩИЯ КОМПЛЕКТ ОТГОВАРЯ ВЪВ ВСИЧКИ ОТНОШЕНИЯ НА ПЪРВОНАЧАЛНО ОЦЕНЕНИТЕ ОТ НАУЧНО-ИЗСЛЕДОВАТЕЛСКИЯ ИНСТИТУТ AOAC СПЕСИФИКАЦИИ, ПОСОЧЕНИ ДЕТАЙЛНО В СЕРТИФИКАТ НОМЕР 100503 *Проверени методи за работа.*

Различни от *S. aureus* бактерии могат да използват други хромогенни субстрати, резултиращи в поява на сини, синьозелени или, при неизползване на хромогенни субстрати, колонии с естествен цвят.

РЕАГЕНТИ

BBL CHROMagar Staph aureus

Приблизителна формула* на литър пречистена вода

Хромопептон	40,0 g
Натриев хлорид	25,0 g
Хромогенна смес	0,5 g
Инхибиторни агенти	0,07 g
Агар	14,0 g

pH: 6,8 +/- 0,2

*Пригоден и/или допълнен според изискванията за удовлетворяване на критериите за ефективно функциониране.

ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

IVD . Само за професионална употреба.

При наличие на излишна влажност обърнете дъното над капака за да се изсуши на въздух, с цел предотвратяване образуването на уплътняващ слой между горната част и дъното на чашката по време на инкубация. Не излагайте на светлина по време на сушене. Вижте **СЪХРАНЕНИЕ И СРОК НА ГОДНОСТ.**

Не използвайте чашки, ако те съдържат признаци на микробно замърсяване, обезцветяване, изсушаване, пукнатини или други признаци на увреждане.

В клиничните материали могат да присъстват патогенни микроорганизми, в това число хепатитни вируси и човешки имунодефицитен вирус. При обработката на всички предмети, замърсени с кръв и други телесни течности, е необходимо спазване на стандартните предпазни мерки[7-10] и институционални правила.

Съблюдавайте асептичните техники и установените предпазни мерки срещу микробиологични рискове по време на всички процедури.

След употреба приготвените чашки, контейнери с материали и други замърсени материали трябва да бъдат стерилизирани чрез автоклавна обработка преди изхвърлянето им.

За справка относно асептичните манипулационни процедури, биологичните опасности и изхвърлянето на използвания продукт вижте документа **ОБЩИ ИНСТРУКЦИИ ЗА УПОТРЕБА**.

СЪХРАНЕНИЕ И СРОК НА ГОДНОСТ

След получаване съхранявайте чашките на тъмно, при температура от 2 до 8° C, в оригиналната им маншетна опаковка до момента на непосредствената им употреба. Не допускайте замразяване и прегряване. Чашките могат да бъдат инокулирани до изтичане на срока на годност (виж етикета на опаковката) и инкубирани според препоръчваните инкубационни периоди.

Отворените комплекти от 10 чашки могат да се използват в продължение на една седмица при съхранение на чисто място при температура от 2 до 8° C.

ПОТРЕБИТЕЛСКИ КАЧЕСТВЕН КОНТРОЛ

Проверете функционирането чрез инокулиране на представителна мостра от чашки с чисти култури на стабилни контролни организми, произвеждащи известни и желани реакции (за подробности вижте документа **ОБЩИ ИНСТРУКЦИИ ЗА УПОТРЕБА**).

Посочените в таблицата по-долу контролни щамове са препоръчителни. Инкубирайте аеробно за 18 до 24 часа при температура 35 ± 2°C на тъмно.

Щамове	Темпове на растеж
Staphylococcus aureus ATCC 25923	Растеж; розоволилави колонии
Staphylococcus saprophyticus ATCC 15305	Растеж; зелени до синьозелени колонии
Proteus mirabilis ATCC 12453	Инхибиране (частично до пълно)
Неинокулирани	Безцветни до светлокехлибарени, лесно за проследяване помътняване

Необходимо е спазване на изискванията за качествен контрол според приложимите местни, щатски и/или федерални норми или акредитационните изисквания и стандартните за вашата лаборатория процедури по качествен контрол. Препоръчва се клиничния потребител да се обърне към приложимите указания на Института по клинични и лабораторни стандарти (бивш NCCLS) за подходящи практики по качествен контрол.

ПРОЦЕДУРА

Предоставяни материали

BBL CHROMagar Staph aureus, доставяна в 90 mm **Stacker** чашки

Необходими, но непредоставяни материали: Допълнителна културална среда, реагенти и друго лабораторно оборудване според нуждите.

Видове материали

За подробности относно събирането на материали/образци и манипулационните процедури се отнасяйте към съответните текстове или стандарти. Тази среда се използва за изолиране на *Staohylococcus aureus* от всички типове клинични материали. Вижте също **РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ И ОГРАНИЧЕНИЯ НА ПРОЦЕДУРАТА**.

За тестуване на храни следвайте подходящите стандартни методи за подробности относно приготвянето на образци и обработка в съответствие с типа образец и географското местоположение.

Методика на тестуване

Спазвайте асептичните техники. Агарната повърхност трябва да е гладка и влажна, но без излишна влажност. За клинични материали инокулирайте материала върху чашка с **BBL CHROMagar Staph aureus** и посейте за изолация възможно най-бързо след получаването му в лабораторията. Ако материалът е култивиран от намазка, потрийте намазката върху неголям участък в края; след това направете посявка от тази повърхност с примка. Инкубирайте чашките аеробно при температура 35 ± 2°C за 20-24 ч в обърнато положение (агарна среда нагоре).

За образци от храна се отнасяйте към съответните референции и следвайте приложимите стандартни методи. Инокулирайте хомогенизираните образци от храна в **BBL CHROMagar Staph aureus** с използване на техниката за разпространяване. Инкубирайте чашките аеробно при температура 35 ± -37°C за 20-28 ч в обърнато положение (агарна среда нагоре).

Резултати

След правилно инкубиране отчетете данните върху бял фон. *S. aureus* ще произведе розоволилави до оранжеви/розоволилави колонии в среда **BBL CHROMagar.** Повечето грамположителни организми, ако не са инхибирани, ще произведат сини, синьозелени или с естествен цвят (безцветни, бели или кремави) колонии. Грамотрицателните организми и дрожди се инхибират частично до изцяло.

РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ И ОГРАНИЧЕНИЯ НА ПРОЦЕДУРАТА

Функционални резултати[12]

Клинично тестуване

1. При полево проучване, проведено в голяма общинска болница в САЩ, бяха оценени 201 материали от гърло и храчки от пациенти с цистична фиброза и 459 назални материали от други болнични пациенти в **BBL CHROMagar Staph aureus.**

BBL CHROMagar Staph aureus бе сравнявана с кръвен агар или Mannitol Salt Agar, с потвърждаване на изолатите чрез коагулаза върху предметно стъкло. *S. aureus* бе открита в 190 комбинирани материала. **BBL CHROMagar Staph aureus** откри 9 допълнителни положителни на *S. aureus* култури, които не бяха открити в обикновената среда. В средата **BBL CHROMagar Staph aureus** бяха наблюдавани също четири потенциално фалшиви положителни резултата след 24-часова инкубация: две коринебактерии и две отрицателни към коагулаза стафилококи. **BBL CHROMagar Staph aureus** показа обща чувствителност от 99,5% и специфичност от 99,2%.[11]

2. В европейско изследване върху **CHROMagar Staph aureus**, Mannitol Salt Agar и Columbia Agar with 5% Sheep Blood бяха посяти сто шестдесет и пет (165) материала от рутинни лабораторни изследвания, състоящи се от 100 материала, показали наличие на *S. aureus* при стандартни методи (=известни като положителни материали) и 65 известни като отрицателни материала. Типовете материали са посочени в Таблица 1. Чашките бяха инкубирани 20 до 24 часа при температура от 35 до 37°C и бяха отчетени за колонии със съмнение за *S. aureus*. Тестове за коагулаза в пробирка бяха проведени за всички съмнителни колонии от трите среди. Също така бе определен темпа на растеж на *S.aureus* (оценяван полуколичествено).

Таблица 1: Видове материали

Тип материал	**Известни положителни за *S. aureus* материали**	**Известни отрицателни за *S. aureus* материали**
Абсцеси	14	6
Асцитна течност	1	0
Кост	1	0
Торбичка	1	0
Катетър	4	0
Дренаж	1	0
Фистула	0	1
Хирургични материали	12	15
Други намазки	12	19
Флегмона	1	0
Трахеални секрети	1	0
Рани	52	24
Общо	100	65

Резултати: От 165 материала 100 показаха растеж на *S. aureus* във всякаква среда, потвърден от тестуване за коагулаза на всички среди.
В **CHROMagar Staph aureus** 100 материала показаха растеж на S. aureus; в Mannitol Salt Agar 91 показаха растеж на *S. aureus*; в Columbia Agar заедно с тестуване за коагулаза 98 материала бяха положителни за *S. aureus*. В **CHROMagar Staph aureus** имаше един фалшив положителен резултат, който се оказа че е *Streptococcus agalactiae*. След повторно посяване в **CHROMagar Staph aureus** колониите бяха повече виолетови, отколкото розови до розоволилави на цвят.
Сред известните като отрицателни материали имаше 5 култури с виолетови или лилави колонии, подобни на *S. aureus* по цвят. Въпреки това, те могат да бъдат лесно диференцирани от колониите на *S. aureus* (=розови до розоволилави) от човек, който не е добре запознат с цветовете на колониите на различните растящи в среда видове (на него му бе предоставено преди началото на изследването само резюме на цветовете и организмите, появяващи се в средата).
Чувствителността на **CHROMagar Staph aureus** (въз основа на колонии с розов до розоволилав цвят), Mannitol Salt Agar (въз основа на колонии, обкръжени от жълта среда) и Columbia Agar (растеж на типични за *S. aureus* колонии с тестуване за коагулаза) бе 100%, 91% и 98%. Специфичността на **CHROMagar Staph aureus** бе 98,5%.

Интензивността на растеж в **CHROMagar Staph aureus** бе значително по-висока от тази в MSA (*p*= 0,05); вижте таблица 2.
CHROMagar Staph aureus може да се използва за разнообразни материали.

Таблица 2: Интензивност на растеж на изолати на S. aureus в CSA* сравнен с MSA*

	Интензивност на растеж					
	CSA = Col	CSA> Col	Col>CSA	CSA=MSA	CSA>MSA	MSA>CSA
Брой материали	74	12	14	74	18**	8

* CSA, **CHROMagar Staph aureus**; MSA, Mannitol Salt Agar, Col, Columbia Agar with 5% Sheep Blood
** статистически значителна разлика (*p*= 0,05)

Тестуване на храни

BBL CHROMagar Staph aureus е утвърдена от научно-изследователския институт AOAC по програмата Проверени методи за работа. Средата бе оценена от външна референтна лаборатория, както и вътрешно от BD, за отделяне и преброяване на *S. aureus* в приготвен ростбиф, пушена сьомга и натурални яйца. Отделянето и преброяването на *S. aureus* в ***BBL CHROMagar*** Staph aureus бе сравнено с референтна среда в чашки на AOAC и ISO, Baird-Parker Agar, с използване на препоръчвани разредители при ниски, средни и високи нива на инокулат от *S. aureus*. След 24-часова инкубация бе извършено преброяване в ***BBL CHROMagar*** Staph aureus и след 48 часа – в Baird-Parker Agar. На база на статистически анализ не бе открита значителна разлика между референтните методи и метода ***BBL CHROMagar*** Staph aureus за който и да е тип храна или ниво на замърсяване, с изключение на образеца от пушена сьомга с ниско ниво. Ниското ниво на замърсяване на пушената сьомга показа статистическа разлика при вътрешно тестуване с използване на ISO метод, т.е. метода ***BBL CHROMagar*** Staph aureus за 24 часа отдели повече колонии (log_{10} = 2,04) отколкото референтния ISO за 48 ч (log_{10} = 1,64). Оценките на прецизността на повторение за метода ***BBL CHROMagar*** Staph aureus бяха задоволителни. Коефицентите на корелация бяха в диапазон от 92,6% до 99,4%, показвайки добра корелация за всички нива на замърсяване при всички типове храни. Данните са обобщени в таблици 1 и 2. При използване на ***BBL CHROMagar*** Staph aureus от хранителните матрици не бяха отделени фалшиви положителни колонии. Всички розоволилави колонии бяха потвърдени като *S. aureus* без разминавания. Допълнително бяха оценени 30 щама на *S. aureus*, в това число известни произвеждащи ентеротоксин щамове, и 37 различни от *S. aureus* изолата, показващи 100% чувствителност и специфичност в ***BBL CHROMagar*** Staph aureus.[11]

Таблица 1. Обобщени резултати от външно AOAC и ISO тестуване на приготвен ростбиф и натурални яйца[1-3]

		AOAC		
	Ниво на инокулат	**Двоен t-тест или единичен ANOVA[a]**	**Повторение (стандартно отклонение)[b]**	**Квадрат на коефицента на линейна корелация**
Приготвен ростбиф	Ниско	Незначителен	0,398	96,0%
	Средно	Незначителен	0,04	
	Високо	Незначителен	0,062	
Натурални яйца	Ниско	Незначителен	0,302	95,5%
	Средно	Незначителен	0,089	
	Високо	Незначителен	0,143	
		ISO		
	Ниво на инокулат	**Двоен t-тест или единичен ANOVA[a]**	**Повторение (стандартно отклонение)[b]**	**Квадрат на коефицента на линейна корелация[c]**
Приготвен ростбиф	Ниско	Незначителен	0,315	94,6%
	Средно	Незначителен	0,045	
	Високо	Незначителен	0,117	
Натурални яйца	Ниско	Незначителен	0,341	92,6%
	Средно	Незначителен	0,223	
	Високо	Незначителен	0,135	

За бележките под линия вижте Таблица 2

Таблица 2. Обобщени резултати на външно и вътрешно AOAC и ISO тестуване на пушена сьомга

	Ниво на инокулат	Двоен t-тест или единичен ANOVA[a]		Повторение (стандартно отклонение)[b]		Квадрат на коефицента на линейна корелация[c]	
AOAC пушена сьомга	Ниско	Незначителен	Незначителен	0,132	0,271	99,4%	93,2%
	Средно	Незначителен	Незначителен	0,055	0,095		
	Високо	Незначителен	Незначителен	0,064	0,161		
ISO пушена сьомга	Ниско	Незначителен	Значителен[d]	0,158	0,227	98,7%	97,4%
	Средно	Незначителен	Незначителен	0,135	0,165		
	Високо	Незначителен	Незначителен	0,116	0,033		

a Двойния t-тест и единичния ANOVA анализ се използват за оценка на сравнимо функциониране на **BBL CHROMagar Staph aureus** и референтна среда чрез сравняване на значението $\log_{10}$ на броя колонии.
b Повторението показва, че **BBL CHROMagar Staph aureus** произвежда сравними резултати при тестове, провеждани със същия материал и метод.
c Квадратът на коефицента на линейна корелация се използва за оценка на прецизността на количествените методи върху различни преброявания на *S. aureus.*
d **BBL CHROMagar Staph aureus** отдели повече колонии, отколкото референтния ISO метод.

Ограничения на процедурата

Рядко някои различни от *S. Aureus* щамове на стафилококи, като: *S. cohnii*, *S. intermedius* и *S. schleiferi*, както и коринебактерии и дрожди, могат да произведат розоволилави колонии за 24 ч.[11] Диференцирането на *S. aureus* от различни от *S. aureus* може да се осъществи чрез коагулаза, други биохимични методи или Грам оцветител. Резистентни грамотрицателни бацили, които типично се появяват като малки сини колонии, могат също да се появят.

Инкубация над 24 ч (клинична) и 28 ч (храни) не се препоръчва поради увеличаване на потенциално фалшивите положителни резултати. Ако времето за инкубация е превишено, необходимо е оцветените в розоволилаво колонии да бъдат потвърдени, преди да се докладва за *S. aureus*.

По-къса от препоръчваната 20-часова инкубация може да резултира в нисък процент на получени правилни резултати.

Поради естествения златен пигмент на някои щамове на *S. aureus,* цветът на колонията може да се прояви като оранжеворозоволилав.

СПРАВОЧНА ЛИТЕРАТУРА

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. Yolken (eds.), Manual of clinical microbiology, 8th edition. ASM, Washington DC.
5. Bennett, R.W. and G.A. Lancette. 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. Файлови данни, BD Diagnostic Systems.

ОПАКОВКА/СЪДЪРЖАНИЕ

РЕФ	257074	Готова за употреба среда в чашка, пакет от 20
РЕФ	257099	Готова за употреба среда в чашка, пакет от 120

ДОПЪЛНИТЕЛНА ИНФОРМАЦИЯ

За допълнителна информация моля свържете се с местния представител на BD.

Becton Dickinson GmbH
BD Diagnostic Systems
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

BD Diagnostic Systems Europe
Becton Dickinson France SA
11 rue Aristide Bergès
38800 Le Pont de Claix/France
Tel: +33-476 68 3636 Fax: +33-476 68 3292 http://www.bd.com

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. © 2009 BD