



ИНСТРУКЦИИ ЗА  
УПОТРЕБА – ГОТОВА ЗА  
УПОТРЕБА СРЕДА ВЪРХУ  
ПРЕДМЕТНО СЪКЛО



PA-254105.04

Рев.: Dec 2008

## BD BBL CHROMagar O157

Патент на САЩ № 6,165,743



\*See footnote below

### ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

**BBL CHROMagar O157** е селективна среда за изолиране, диференциране и презумптивно идентифициране на *Escherichia coli* O157:H7 от клинични, хранителни, ветеринарни и отнасящи се до околната среда източници.

**BBL CHROMagar O157** бе утвърдена от научно-изследователския институт AOAC по програмата Проверени методи за работа за анализ на нарязано сурово говеждо месо и непастъризирани ябълков сидър с използване на методите FDA BAM, USDA FSIS и ISO.<sup>1-3</sup>

### ПРИНЦИПИ И ОБЯСНЕНИЕ НА ПРОЦЕДУРАТА

Микробиологичен метод.

*E. coli* O157:H7 е най-често изолирания патоген от кървави изпражнения.<sup>4-6</sup> Въпреки това, липсата на кървава диария не изключва наличието на *E. coli* O157:H7.<sup>7</sup> Този серотип причинява широк кръг от заболявания, от лека некървава диария до тежка кървава диария (хемолитичен колит), хемолитичен уремичен синдром и смърт.<sup>4-6</sup> Изолирането на *E. coli* O157:H7 превишава това на някои други разпространени чревни патогени, особено *Shigella*, в много области и възрастови групи. Предаването най-често се осъществява чрез употреба на сурово или недопечено говеждо месо; въвлечени са също и други храни.<sup>4-6</sup> Освен това предаването може да се осъществи от лице на лице, както и от рехабилитационни водни източници.<sup>4-6</sup>

**CHROMagar O157** е предназначен за изолиране, диференциране и презумптивно идентифициране на *E. coli* O157:H7. Поради наличието на хромогенни субстрати в средата, колонии на *E. coli* O157:H7 образуват розоволилав цвят, позволявайки презумптивното идентифициране от чашка за първична изолация и диференцирането им от други организми. При образци с ниски количества от *E. coli* O157:H7 могат да са от полза методи за обогатяване преди инокулиране на средата.

**BBL CHROMagar O157** 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 O157**.

Специално подбрани пептони **Difco** доставят хранителните вещества. Добавянето на калиев телурит, цефиксим и цефсулодин намалява количеството бактерии, различни от *E. coli* O157:H7, които растат в тази среда. Хромогенната смес се състои от изкуствени субстрати (хромогени), които освобождават неразтворимо оцветено съединение при хидролизирането им от специфичен ензим. *E. coli* O157:H7 използва един от тези хромогенни субстрати, произвеждайки розоволилави колонии.

\*ДОСТАВЯНИТЕ ОТ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ ОБРАЗЦИ НА ТОЗИ МОДЕЛ ТЕСТОВ КОМПЛЕКТ БЯХА НЕЗАВИСИМО ОЦЕНЕНИ ОТ НАУЧНО-ИЗСЛЕДОВАТЕЛСКИЯ ИНСТИТУТ АОАС 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 АОАС СПЕСИФИКАЦИИ, ПОСОЧЕНИ ДЕТАЙЛНО В СЕРТИФИКАТ НОМЕР 090501 Проверени методи за работа.

Растежът на розоволилави колонии се счита за презумптивен за *E. coli* O157:H7 в **BBL CHROMagar O157**. Различните от *E. coli* O157:H7 бактерии могат да използват други хромогенни субстрати, резултиращи в сини до синьозелени колонии или, ако никой от хромогенните агенти не се използва, coloniите могат да се появят със своя естествен цвят. Това улеснява откриването и диференцирането на *E. coli* O157:H7 от други организми.

## РЕАГЕНТИ

### BD CHROMagar O157 среда

Приблизителна формула\* на литър пречистена вода

Хромопептон	16,0 g
Натриев хлорид	7,0 g
Хромогенна смес	0,65 g
Калиев телурит	2,5 mg
Цефиксим	0,05 mg
Цефсулодин	4,0 mg
Агар	14,0 g

pH: 7,1 ± 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<sup>8-11</sup> и институционални правила.

Патогенни микроорганизми, в това число *E. coli* O157, могат да присъстват в образци от храна. 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. Не отваряйте преди готовност за употреба.

Чашките могат да бъдат инокулирани до изтичане на срока на годност (виж етикета на опаковката) и инкубирани според препоръчаните инкубационни периоди. Преди инокулиране средата трябва да се затопли до стайна температура.

Отворените комплекти от 10 чашки могат да бъдат използвани една седмица при съхранение в чисто място при температура от 2 до 8°C. **Сведете до минимум излагането на светлина преди и по време на инкубация, тъй като светлината може да разруши хромогените.**

## 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  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  на тъмно.

Щамове	Темпове на растеж
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 ATCC 700728 (=NCTC 12900)	Значителен до отличен растеж. Сивовиолетови до розововиолетови колонии (=розовоилави).
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Частично до пълно инхибиране; синьозелени колонии; могат да са обкръжени от синьозелена зона
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	Растеж: синьозелени до сини колонии
Неинокулирани	Безцветни до светлобежови, прозрачни

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

**BD CHROMagar O157 среда** (90 mm **Stacker** чашки). Микробиологично проверени.

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

### Видове материали

За клинична употреба се отнасяйте към лабораторните процедури за подробности относно събирането на материали и процедурите по манипулация. Тази среда се използва за изолиране на *Escherichia coli* O157:H7 от материали от изпражнения или ректални секрети на пациенти със съмнение за инфекция с този агент.

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

Вижте също **РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ И ОГРАНИЧЕНИЯ НА ПРОЦЕДУРАТА**.

### Методика на тестване

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 O157** 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. Като алтернатива чашките могат да бъдат инокулирани от предварително обогатени материали. Инкубирайте чашките аеробно при температура  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  за 18-24 ч в обърнато положение (агарна среда нагоре). За осигуряване откриването на други чревни патогени може да бъде инокулирана също и друга среда, като **BD MacConkey II Agar**.

За образци от храна се отнасяйте към съответните референции и следвайте приложимите стандартни методи. Инокулирайте инкубирания обогатяващ бульон или сортираните частици от хранителния образец в **BBL CHROMagar O157** и посейте за изолиране. Инкубирайте чашките аеробно при температура  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  за 18-24 ч в обърнато положение (агарна среда нагоре).

### Резултати

След правилно инкубиране отчетете резултати срещу бял фон. *E. coli* O157:H7 ще произведе оцветени в розовоилаво колонии в среда **BBL CHROMagar O157**. Всички розовоилави колонии трябва да бъдат потвърдени биохимично и серологично преди

докладване за *E. coli* O157:H7.<sup>1,2,3,6</sup> Грамположителните организми трябва да бъдат изцяло инхибирани. Грампотрицателните организми, различни от *E. coli* O157:H7, ще бъдат или инхибирани, или ще произведат безцветни, сини, зелени, синьозелени (с цвят на морска вода) или естествени по цвят колонии.

## РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ И ОГРАНИЧЕНИЯ НА ПРОЦЕДУРАТА

**BBL CHROMagar O157** е хромогенна среда за селективно изолиране, диференциране и презумптивно идентифициране на *E. coli* O157:H7 от клинични, хранителни, ветеринарни и отнасящи се до околната среда източници.

### Функционални резултати<sup>12</sup>

**Клинично тестване:** Общо 110 замразени фекални изолата и 16 култури от изпражнения (10 пресни и 6 архивирани) бяха оценени в общинска болница с използване на **BBL CHROMagar O157**, Sorbitol MacConkey (SMAC) и Sorbitol MacConkey with Cefixime and Tellurite (SMAC-CT). Замразените фекални изолати съдържаха 50 *E. coli* O157:H7, 15 *E. coli* non-O157, 8 положителни към Шига токсин *E. Coli*, различни от O157, и 37 други *Enterobacteriaceae* и неферментиращи грамотрицателни пръчици. Седем от 16 тествани изпражнения бяха отчетени като положителни за *E. coli* O157:H7. Бяха наблюдавани следните чувствителности и специфичности:

	Чувствителност (№)	Специфичност (№)
<b>BBL CHROMagar O157</b>	98 % (56/57)	100 % (69/69)
<b>SMAC</b>	96 % (55/57)	80% (55/69)
<b>SMAC-CT</b>	100 % (57/57)	93% (64/69)

### Тестване на храни

**BBL CHROMagar O157** е утвърдена от научно-изследователския институт AOAC по програмата Проверени методи за работа.<sup>12</sup> **BBL CHROMagar O157** бе оценена за откриване на *E. coli* O157:H7 в нарязано сурово говеждо месо и непастьоризиран ябълков сидър с използване на посети образци. Отделянето на *E. coli* O157:H7 в **BBL CHROMagar O157** бе сравнено с референтна среда в чашка според FDA BAM, USDA FSIS и ISO. Препоръчаните обогатяване и скринингови процедури бяха спазвани за референтната среда и **BBL CHROMagar O157**. В съответствие с методите USDA и ISO бе проведено имунно сепариране с фуксин (IMS). От проверяваните 180 образци от храна, 45 бяха тествани според методите FDA BAM и USDA FSIS и 90 – с използване на методите ISO. **BBL CHROMagar O157** произведе чувствителност от 100% и специфичност от 100% по сравнение с референтните методи и за двете хранителни матрици. При тестването на хранителните матрици не бяха открити фалшиви отрицателни резултати. При отделяне с употреба на метода **BBL CHROMagar O157** не бе открита статистическа разлика, по сравнение с референтната среда в чашка въз основа на анализа Чи-квадрат. Известни изолати, в това число 54 щамове на *E. coli* O157:H7 (3 от които бяха неподвижни щамове) и 32 различни от *E. coli* O157:H7 щамове бяха оценени в **BBL CHROMagar O157** с 100% чувствителност и специфичност. Резултатите от тези изследвания показаха, че **BBL CHROMagar O157** е ефективна среда за отделяне и откриване на *E. coli* O157:H7 в нарязано сурово говеждо месо и непастьоризиран ябълков сидър с използване на методите FDA BAM, USDA FSIS и ISO. Вижте Таблица 1 за обобщените резултати на сравнителния валидиращ метод.

**Таблица 1: Обобщени резултати на сравнителен валидиращ метод**

Хранителна матрица	Метод	Ниво на инокулат	Общо образци	Общо положителни	Референтни положителни	CHROMagar O157 положителни	Съвпадени е с метода <sup>1</sup>	Чи-квадрат <sup>3</sup>
Нарязано сурово говеждо месо	USDA говеждо месо	Високо	20	15	12	15	85% <sup>2</sup>	1.33
		Ниско	20	13	10	13	85% <sup>2</sup>	1.33
		Контролно	5	0	0	0	-	-
Нарязано сурово говеждо месо	ISO говеждо месо	Високо	20	17	16	17	95% <sup>2</sup>	0.00
		Ниско	20	10	9	10	95% <sup>2</sup>	0.00
		Контролно	5	0	0	0	-	-
Непастьоризиран ябълков сидър	ISO сидър	Високо	20	19	19	19	100%	0.00
		Ниско	20	14	14	14	100%	0.00
		Контролно	5	0	0	0	-	-
Непастьоризиран ябълков сидър	FDA сидър	Високо	20	13	13	13	100%	0.00
		Ниско	20	10	10	10	100%	0.00
		Контролно	5	0	0	0	-	-

<sup>1</sup> Представя процента на потвърдени положителни и отрицателни образци, комбинирани, които бяха еквивалентни на референтните и **BBL CHROMagar O157** методи.

<sup>2</sup> Допълнителни положителни образци, открити от метода **BBL CHROMagar O157**, 3 допълнителни положителни резултата при тестване на нарязано сурово говеждо месо по метода USDA/FSIS и 1 допълнителен положителен резултат при тестване на нарязано сурово говеждо месо по метода ISO .

<sup>3</sup> Чи-квадрат стойности от < 3,84 посочват незначителна разлика от  $p < 0,05$ .

### Ограничения на процедурата

**BBL CHROMagar O157** не открива чревнотифозни или чревнопатогенни серотипи на *E. coli*, различни от O157:H7, тъй като те могат да се различават биохимично.

Положителните към  $\beta$ -глюкоронидаза щамове на *E. coli* O157:H7 няма да бъдат открити в **BBL CHROMagar O157**; обаче такива щамове са редки.

**BBL CHROMagar O157** не прави разлика между произвеждащи и непроизвеждащи токсин щамове на *E. coli* O157:H7.

Различните от *E. coli* O157:H7 организми, като *Proteus* spp., могат да растат в тази среда; обаче обикновено те произвеждат различен цвят. При наблюдаване на неизолирани розоволилави колонии изолиране може да се постигне чрез повторно посяване в друга чашка с **BBL CHROMagar O157**. Открити са редки щамове на *E. coli* (биохимично подобни на *Shigella*), произвеждащи фалшиви положителни резултати в **BBL CHROMagar O157**. Инкубирането при по-ниски от препоръчаните температури може да забави откриването на положителни реакции. Ако температурата на инкубиране е под  $35 \pm 2^\circ\text{C}$ , чашките трябва да бъдат инкубирани за пълни 24 часа преди докладване на отрицателни резултати.

За точно идентифициране са необходими потвърждаващи тестове. 1-3,6

Тази среда не трябва да се използва за изолиране на чревни патогени, различни от *E. coli* O157:H7.

### СПРАВОЧНА ЛИТЕРАТУРА

1. U.S. Food and Drug Administration. 2002. Bacteriological analytical manual (online), Chapter 4A: Diarrheagenic *Escherichia coli*. AOAC International, Gaithersburg, MD. <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-toc.html>
2. U. S. Department of Agriculture. 2002. Detection, isolation and identification of *Escherichia coli* O157:H7 and O157:NM (Nonmotile) from meat products. In Microbiology laboratory guidebook MLG 5.03.
3. International Organization for Standards (ISO) Microbiological Methods, ISO 16654: Microbiology of food and animal feeding stuffs – horizontal method for the detection of *Escherichia coli* O157, First Edition, 2001-05-01.
4. Moe, C. 2002. Waterborne transmission of infectious agents. In C. Hurst, R. Crawford, G. Knudsen, M. McInerney, and L. Stetzenbach (eds.), Manual of environmental microbiology, 2nd ed. American Society for Microbiology, Washington, DC.
5. Doyle, M., T. Zhao, J. Meng, and S. Zhao. 1997. *Escherichia coli* O157:H7. In M. Doyle, L. Beuchat, and T. Montville (eds.), Food microbiology fundamentals and frontiers. American Society for Microbiology, Washington, DC.
6. Bopp, C.A., F.W. Brenner, P.I. Fields, J.G. Wells, and N.A. Strockbine. 2003. *Escherichia*, *Shigella* and *Salmonella*. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, J.H. Jorgensen and R.H. Tenover (eds.), Manual of clinical microbiology. 8th ed. American Society for Microbiology, Washington DC.
7. CDC MMWR Jan 26, 2001/50 (RR02): 1-69. Diagnosis and management of foodborne illness.
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. 2nd ed., NCCLS, Wayne, Pa.
9. 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.
10. 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, D.C.

11. 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.
12. Файлови данни, BD Diagnostic Systems.

## **ОПАКОВКА/СЪДЪРЖАНИЕ**

### **BD CHROMagar O157 среда**

Кат. № 254105

Готова за употреба среда в чашка, пакет от 20

## **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.

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

CHROMagar is a trademark of Dr. A. Rambach.

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

BD, BD Logo and BBL are trademarks of Becton, Dickinson and Company.

© 2006 BD.