

BD BBL CHROMagar O157

Amerikansk patentnr. 6,165,743



*See footnote below

TILSIGTET BRUG

BBL CHROMagar O157 er et selektivt medium til isolering, differentiering og formodentlig identifikation af *Escherichia coli* O157:H7 fra kliniske, fødevarer-, veterinære og miljøkilder.

BBL CHROMagar O157 er blevet godkendt af AOAC-Research Institute Performance Tested MethodsSM-programmet til analyse af rå oksefars og upasteuriseret æblemost ved brug af FDA-BAM-, USDA FSIS- og ISO-metoderne.¹⁻³

PROCEDURENS PRINCIPPER OG FORKLARING

Mikrobiologisk metode.

E. coli O157:H7 er det hyppigst isolerede patogen fra blodholdig fæces.⁴⁻⁶ Fravær af blodholdig diaré udelukker dog ikke tilstedeværelsen af *E. coli* O157:H7.⁷ Denne serotype forårsager en omfattende mængde sygdom fra mild ikke-blodholdig diaré til slem blodholdig diaré (hæmolytisk colitis), hæmolytisk uræmisk syndrom og død.⁴⁻⁶ Isoleringen af *E. coli* O157:H7 overstiger den af visse andre almindelige enteriske patogener, især *Shigella*, i mange områder og aldersgrupper. Transmission forekommer oftest via indtagelse af rått eller understegt oksekød. Andre fødevarer er også blevet impliceret.⁴⁻⁶ Transmission kan endvidere forekomme fra person til person eller fra rekreative vandkilder.⁴⁻⁶

CHROMagar O157 er beregnet til isolering, differentiering og formodet identifikation af *E. coli* O157:H7. På grund af de chromogene substrater i mediet producerer kolonier med *E. coli* O157:H7 en mauve farve, hvilket muliggør formodet identifikation ud fra den primære isoleringsplade og differentiering fra andre organismer. I prøver med et lavt antal *E. coli* O157:H7 kan berigelsesmetoder være nyttige inden inkulering af mediet.

CHROMagar O157 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 O157** præpareret plademedium.

Særligt udvalgte **Difco** peptoner forsyner næringsstofferne. Tilsættelsen af kaliumtellurit, cefixim og cefsulodin reducerer antallet af bakterier andre end *E. coli* O157:H7, som vokser på dette medium. Den chromogene blanding består af kunstige substrater (chromogener), som frigiver en uopløselig, farvet forbindelse ved hydrolysering af et specifikt enzym. *E. coli* O157:H7 anvender ét af de chromogene substrater, som producerer mauve kolonier. Væksten af mauve kolonier anses for at være formodet for *E. coli* O157:H7 på **BBL CHROMagar O157**. Ikke-*E. coli* O157:H7 bakterier kan anvende andre chromogene substrater, hvilket resulterer i blå til blå-grønne kolonier, eller, hvis ingen af de chromogene substrater anvendes, kan kolonier forekomme med deres naturlige farve. Dette letter påvisning og differentiering af *E. coli* O157:H7 fra andre organismer.

*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 Methods*SM CERTIFIKATNUMMER 090501.

REAGENSER

BD CHROMagar O157 Medium

Omtrentlig formel* pr. liter rensset vand

Chromopepton	16,0 g
Natriumchlorid	7,0 g
Chromogen blanding	0,65 g
Kaliumtellurit	2,5 mg
Cefixim	0,05 mg
Cefsulodin	4,0 mg
Agar	14,0 g

pH: 7,1 ± 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 forsejling 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 nedbrydning.

Patogene mikroorganismer, herunder hepatitisvira og humant immundefekt virus, kan forekomme i kliniske præparater. Standardforholdsregler⁸⁻¹¹ og institutionelle retningslinier bør følges ved håndteringen af alle materialer, der er kontamineret med blod og andre legemsvæsker.

Patogene mikroorganismer, inklusive *E. coli* O157, kan være til stede i fødevarerprøver. 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 frysning og overophedning. Må ikke åbnes inden brugstidspunktet. Pladerne kan inokuleres indtil udløbsdatoen (se etiketten på pakken) og inkuberes i de anbefalede inkubationstider. Lad mediet opnå stuetemperatur inden inokulering. Plader fra åbnede stabler med 10 plader kan bruges i én uge, når de opbevares rent ved 2 til 8 °C.

Minimér eksponering for lys før og under inkubation, da lys kan ødelægge chromogenerne.

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>Escherichia coli</i> O157:H7 ATCC 700728 (=NCTC 12900)	Rimelig til fortrinlig vækst. Kolonier grållilla til rosaviolette (= mauve)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Hæmning delvis til fuldstændig; kolonier blå-grønne; kan være omringet af en blå-grøn halo
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	Vækst: blå-grønne til blå kolonier
Ikke-inokuleret	Farveløs til lys beige, transparent

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

BD CHROMagar O157 Medium (90 mm **Stacker** plader). Mikrobiologisk kontrolleret.

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

Præparattyper

Ved klinisk brug henvises der til laboratorieprocedurer for detaljer mht. prøvetagnings- og håndteringsprocedurer. Dette medium avendes til isoleringen af *Escherichia coli* O157:H7 fra fæcespræparater eller rektale podninger på patienter mistænkte for at være inficeret med dette stof.

Ved landbrugsfødevaretestning skal passende standardmetoder følges for detaljer mht. prøvepræparering og behandling iflg. prøvetype og geografisk lokalitet. se også **FUNKTIONSDATA OG PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER**.

Testprocedure

Overhold aseptisk teknik. Agaroverfladen skal være glat og fugtig, men uden overdreven fugt. Kliniske præparater skal inokuleres på en **BBL CHROMagar O157** plade snarest muligt efter modtagelse på laboratoriet og udstryges for isolering. Hvis præparatet dyrkes fra en podedind, rulles podedinden over et lille område på overfladen ved kanten, og stryg dernæst ud fra dette område med en løkke. Som et alternativ kan plader inokuleres ud fra præ-berigelser. Inkubér plader aerobt ved 35 ± 2 °C i 18-24 h i inverteret position (med agarsiden opad). Andre medier, såsom **BD MacConkey II Agar**, kan også inokuleres for at yde påvisning af andre enteriske patogener.

For fødevareprøver skal de passende referencematerialer rådføres og gældende standardmetoder følges. Inokulér inkuberet berigelsesbouillon eller screenede fødevareprøvepartikler på **BBL CHROMagar O157** og udstryk for isolering. Inkubér plader aerobt ved 35 ± 2 °C i 18-24 h i inverteret position (med agarsiden opad).

Resultater

Efter passende inkubation læses pladerne imod en hvid baggrund. *E. coli* O157:H7 vil producere mauve-farvede kolonier på **BBL CHROMagar O157** medium. Alle mauve kolonier skal bekræftes biokemisk og/eller serologisk inden rapportering som *E. coli* O157:H7.^{1,2,3,6} Gram-positive organismer bør være fuldstændigt hæmmede. Gram-negative organismer, andre end *E. coli* O157:H7, vil enten være hæmmede eller producere farveløse, blå, grønne, blå-grønne (turkis) eller naturligt farvede kolonier.

FUNKTIONSDATA OG PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER

BD CHROMagar O157 er et chromogent medium til selektiv isolering og formodentlig identifikation af *E. coli* O157:H7 fra kliniske, fødevare-, veterinære og miljøkilder.

Præstationsresultater¹²

Klinisk testning: I alt 110 frosne fækale isolater og 16 fæcesdyrkninger (10 friske og 6 arkiverede) blev evalueret på et storbyshospital ved brug af BBL CHROMagar O157, Sorbitol MacConkey (SMAC) og Sorbitol MacConkey med cefixim og tellurit (SMAC-CT). De frosne fækale isolater bestod af 50 *E. coli* O157:H7, 15 *E. coli* ikke-O157, 8 Shiga-toksin-positive *E. coli* ikke-O157 og 37 andre *Enterobacteriaceae* og ikke-fermentive gram-negative stave. Syv af de 16 fæces, der blev undersøgt, blev fundet at være positive for *E. coli* O157:H7. Følgende sensitiviteter og specificiteter blev observeret:

	Sensitivitet (antal)	Specificitet (antal)
BBL CHROMagar O157	98 % (56/57)	100 % (69/69)
SMAC	96 % (55/57)	80 % (55/69)
SMAC-CT	100 % (57/57)	93 % (64/69)

Landbrugsfødevaretestning

BBL CHROMagar O157 blev godkendt af AOAC-Research Institute under Performance Tested Methods-programmet.¹² **BBL CHROMagar O157** blev godkendt til påvisningen af *E. coli* O157:H7 i rå oksefars og upasteuriseret æblemost ved brug af udsåede prøver. Genvindingen af *E. coli* O157:H7 på **BBL CHROMagar O157** blev sammenlignet med FDA BAM-, USDA FSIS- og ISO-referenceplademedier. Referencen anbefalede, at berigelses- og screeningsprocedurer blev fulgt for referencemedier og **BBL CHROMagar O157**. IMS (Immunomagnetic separation – immunomagnetisk separation) blev foretaget iflg. USDA- og ISO-metoder. Af de 180 testede fødevareprøver blev 45 testet ved brug af FDA BAM- og USDA FSIS-metoder, og 90 blev testet ved brug af ISO-metoder. **BBL CHROMagar O157** producerede en sensitivitet på 100 % og en specificitet på 100 % som sammenlignet med referencemetoderne for begge fødevarematricer. Ingen falske negative blev fundet ved testning af fødevarematricerne. Ingen statistisk forskel blev fundet ved genvinding ved brug af **BBL CHROMagar O157**-metoden i sammenligning med referenceplademediet baseret på chi i anden test-analyse. Kendte isolater, inklusive 54 stammer af *E. coli* O157:H7 (hvoraf 3 var ubevægelige stammer) og 32 ikke-*E. coli* O157:H7 stammer blev evalueret på **BBL CHROMagar O157** med en sensitivitet og specificitet på 100%. Resultaterne af disse undersøgelser demonstrerer, at **BBL CHROMagar O157** er et effektivt medium til genvinding og påvisning af *E. coli* O157:H7 i rå oksefars og upasteuriseret æblemost ved brug af FDA BAM-, USDA FSIS- og ISO-metoder. Se tabel 1 for en oversigt over resultater af en sammenligningsundersøgelse for godkendelsesmetoder.

Tabel 1: Oversigt over resultater af en sammenligning af godkendelsesmetoder

Fødevarematrix	Metode	Inokulum-niveau	Totale prøver	Total positiv	Reference positiv	CHROMagar O157 positiv	Metodeoverensstemmelse ¹	Chi i anden test ³
Rå oksefars	USDA oksekød	Høj	20	15	12	15	85 % ²	1,33
		Lav	20	13	10	13	85 % ²	1,33
		Kontrol	5	0	0	0	-	-
Rå oksefars	ISO oksekød	Høj	20	17	16	17	95 % ²	0,00
		Lav	20	10	9	10	95 % ²	0,00
		Kontrol	5	0	0	0	-	-
Upasteuriseret æblemost	ISO æblemost	Høj	20	19	19	19	100 %	0,00
		Lav	20	14	14	14	100 %	0,00
		Kontrol	5	0	0	0	-	-
Upasteuriseret æblemost	FDA æblemost	Høj	20	13	13	13	100 %	0,00
		Lav	20	10	10	10	100 %	0,00
		Kontrol	5	0	0	0	-	-

¹ Repræsenterer procenten af bekræftede positive og negative prøver, kombineret, som var ækvivalente mellem reference- og **BBL CHROMagar O157**-metoderne.² Yderligere positive prøver påvist med **BBL CHROMagar O157**-metoden: Endnu 3 positive ved testning af rå oksefars med USDA/FSIS-metoden og endnu 1 positiv ved testning af rå oksefars med ISO-metoden.

³ Værdier for chi i en anden test < 3,84 angiver ingen signifikant forskel ved p<0,05.

Procedurens begrænsninger

BBL CHROMagar O157 påviser ikke enterohæmorrhagiske eller enteropatogene serotyper af *E. coli* andre end O157:H7, da de kan være biokemisk anderledes. β -glucuronidase-positive stammer af *E. coli* O157:H7 vil ikke blive påvist på **BBL CHROMagar O157**. Sådanne stammer er dog sjældne.

BBL CHROMagar O157 differentierer ikke mellem toksin-producerende og ikke-toksin-producerende stammer af *E. coli* O157:H7.

Organismer andre end *E. coli* O157:H7, såsom *Proteus*-arter kan vokse på dette medium. De producerer dog generelt en anden farve. Hvis uisolerede mauve kolonier observeres, kan isolering opnås ved at videredyrke til en anden **BBL CHROMagar O157** plade. Sjældne stammer af *E. coli* (biokemisk lig med *Shigella*) er blevet fundet at producere falske positive resultater på **BBL CHROMagar O157**. Inkubation ved lavere end anbefalede temperaturer kan forsinke påvisning af positive reaktioner. Hvis inkubationstemperaturerne er under 35 ± 2 °C, bør pladerne inkuberes i hele 24 timer inden rapportering som negative.¹²

Bekræftende test er nødvendige for definitiv identifikation.^{1-3,6}

Dette medium må ikke anvendes til isoleringen af enteriske patogener andre end *E. coli* O157:H7.

LITTERATUR

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, 2 nd ed. American Society for Microbiology, Washington, DC.
5. Doyle, M., T. Zhao, J. Meng, and S. Zhao. 1997. Escherichia 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. 8 th 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. 2 nd 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), 4 th 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. Data on file, BD Diagnostic Systems.

EMBALLERING/BESTILLING


BD CHROMagar O157 Medium

Kat. nr. 254105

Plademedier klar til brug, cpu 20

YDERLIGERE OPLYSNINGER

Kontakt den lokale BD repræsentant angående yderligere oplysninger.

 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.