



BD BBL CHROMagar O157

USA patendi nr. 6 165 743



*See footnote below

ETTENÄHTUD KASUTUSALA

BBL CHROMagar O157 on selektiivne sööde *Escherichia coli* O157:H7 tüvede selektiivseks isoleerimiseks ja sedastamiseks kliinilisest ja veterinaarsest materjalist, toiduainetest ja ümbritsevast keskkonnast.

Komplekt **BBL CHROMagar O157** tunnustati AOAC-Research Institute'i programmi Performance Tested MethodsSM abil ning see on mõeldud vaid toorest hakklihast ja pastöriseerimata õunaveinist saadud proovide uurimiseks, kasutades FDA BAM, USDA FSIS ja ISO meetodeid.¹⁻³

PROTSEDUURI PÕHIMÕTTED JA SELGITUS

Mikrobioloogiline meetod.

E. coli O157:H7 on kõige sagedamini isoleeritud patogeen verise kõhulahtisuse puhul.⁴⁻⁶ Verise kõhulahtisuse puudumine ei välista siiski *E. coli* O157:H7 puudumist.⁷ See serotüüp põhjustab väga mitmesugust haigestumist alates kergest mitteverisest kõhulahtisusest kuni raske verise kõhulahtisuseni (hemolüütiline koliit), hemolüütilis-ureemilise sündroomi ja surmani.⁴⁻⁶ *E. coli* O157:H7 isoleeritakse kõigis vanusegruppides sagedamini kui mõningaid teisi sageli esinevaid soolepatogeene, nt *Shigella*'t. Nakatumine toimub kõige sagedamini toore või pooltoore loomaliha söömisel, on leitud nakatumist ka teiste toiduainete kaudu.⁴⁻⁶ Lisaks võib nakatumine toimuda inimeselt inimesele, samuti supluseks kasutatavates veekogudes.⁴⁻⁶

CHROMagar O157 on mõeldud *E. coli* O157:H7 isoleerimiseks, diferentseerimiseks ja samastamiseks. Tänu söötmes olevatele kromogeensetele substraatidele kasvab *E. coli* O157:H7 lillat värvi pesadena, võimaldades tekitaja samastamist primaarsel söötmeplaadil ning diferentseerimist teistest organismidest. Väikese *E. coli* O157:H7 kontsentratsiooniga proovide puhul võib samastamisel abiks olla rikastussöötme kasutamine enne proovi inokuleerimist söötmele.

BBL CHROMagar O157 esmaseks arendajaks oli A. Rambach Prantsusmaalt, Pariisi firmast CHROMagar. BD on lepingu alusel optimeerinud seda koostist, kasutades intellektuaalset omandit, mida kasutati eelvalmistatud söötmeplaadi **BBL CHROMagar O157** tootmisel.

Toitaineid annavad spetsiaalselt valitud peptoonid **Difco**. Kaaliumtelluriiki, tsefiksiimi ja tsefulodiini sisaldav lisand takistab söötmele sattunud mitte-*E. coli* O157:H7 bakterite kasvu. Kromogeensegu koosneb kunstlikust substraadist (kromogeenidest), mis teatud ensüümi abil hüdrolüüsimeetodil vabastavad lahustumatut värvilist ainet. *E. coli* O157:H7 kasutab ühte kromogeensetest substraatidest, kasvades seega lillade pesadena. Lillade pesade teke tähendab *E. coli* O157:H7 kasvu söötmel **BBL CHROMagar O157**. Mitte-*E. coli* O157:H7 bakterid võivad kasutada teisi kromogeenseid substraate, kasvades siniste kuni sinakasroheliste pesadena, või ei kasuta ühtegi kromogeenset substraati, kasvades loomulikku värvi pesadena. See võimaldab *E. coli* O157:H7 sedastamist ja diferentseerimist teistest mikroorganismidest.

*SELLE TEST-KITI MUDELI TOOTJA POOLT KAASA ANTUD NÄIDISEID HINNATI SÕLTUMATULT AOAC RESEARCH INSTITUTE'IS (AOAC UURIMISINSTITUUT) NING LEITI, ET NEED VASTAVAD TOOTJA POOLT ESITATUD TEABELE, MIS ON KIRJAS KITIGA KAASAS OLEVAL INFOLEHEL. TOOTJA KINNITAB, ET KÄESOLEV KIT VASTAB IGATI AOAC RESEARCH INSTITUTE'I (AOAC UURIMISINSTITUUT) HINNATUD NÄIDISELE VASTAVALT *Performance Tested Methods*SM SERTIFIKAADILE NR 090501.

REAGENDID

BD CHROMagar O157 Medium

Ligikaudne retsept* ühe liitri puhastatud vee kohta:

Kromopeptoon	16,0 g
Naatriumkloriid	7,0 g
Kromogeensegu	0,65 g
Kaaliumtelluriit	2,5 mg
Tsefiksiim	0,05 mg
Tsefsulodiin	4,0 mg
Agar	14,0 g

pH: 7,1 ± 0,2

*Vajadusel kohandatud ja/või täiendatud vastavalt toimingu kriteeriumitele.

ETTEVAATUSABINÕUD

IVD . Ainult professionaalseks kasutamiseks.

Kui sööde saab liigset niiskust, asetage selle põhi kaanele ja laske kuivada õhu käes, et vältida põhja ja ülaosa vahele kirme tekkimist inkubatsiooni ajal. Kuivamise ajal hoidke valguse eest kaitstult. Vt **SÄILITAMINE JA SÄILIVUSAEG**.

Mitte kasutada söötmeplaate, kui neil on näha mikroobse saastumise, värvimuutuse, kuivamise, mõranemise ilminguid või teisi rikkumise tunnuseid.

Kliinilistes analüüsides võib esineda patogeenseid mikroorganisme, sh hepatiitviiruseid ja HI-viirust. Kõikide vere ja teiste kehavedelikega saastunud esemete käsitlemisel tuleks järgida Standardseid ettevaatusabinõusid⁸⁻¹¹ ja asutusesiseseid juhtnõure.

Toiduproovides võivad olemas olla patogeensed mikroorganismid, sh *E. coli* O157.

Järgige aseptilisi töötamisviise ja kindlaksmääratud ettevaatusabinõusid, et vältida mikrobioloogilisi ohte kõikide protseduuride vältel. Enne äraviskamist tuleb kasutatud ettevalmistatud plaadid, proovianumad ja muud saastunud materjalid steriliseerida autoklaavimise teel.

Aseptiliste käsitlemisprotseduuride, bioriskide ja kasutatud toote realiseerimise suhtes vaadake dokumenti **ÜLDISED KASUTUSJUHISED**.

SÄILITAMINE JA KÕLBLIKKUSAEG

Vastuvõtmisel säilitada söötmeplaate pimedas 2 kuni 8 °C juures oma originaalses ümbrispakendis kuni vahetu kasutamiseni. Vältida külmumist ja ülekuumenemist. Enne kasutamist mitte avada. Söötmeplaate võib inokuleerida kuni aegumiskuupäevani (vaadake pakendi silti) ja inkubeerida soovitatavate inkubatsiooniaegade jooksul. Laske söötmel enne inokulatsiooni soojeneda toatemperatuurini.

Söötmeplaate avatud 10 plaadiga virnast võib kasutada ühe nädala jooksul, kui neid hoida puhtana 2 kuni 8 °C juures pimedas. **Minimeerida valguse ligipääsu enne ja pärast inkubatsiooni, kuna valgus võib lõhustada kromogeene.**

KASUTAJAPOOLNE KVALITEEDIKONTROLL

Funktsionaalsuse kontrollimiseks külvake plaatidele kontrolliks näidisvalim mikroobide puhastest kultuuridest, mis annavad teadaolevaid, soovitatavaid reaktsioone (vt täpsemalt dokumenti **ÜLDISED KASUTUSJUHISED**). Soovitav on kasutada testtüvesid, mis on ära toodud tabelis allpool. Inkubeerida plaate pimedas temperatuuril 35 ± 2 °C aeroobselt 18 kuni 24 h.

Tüved	Kasvu tulemused
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 ATCC 700728 (=NCTC 12900)	Kasv hea kuni väga hea; pesad hallikasvioletsed kuni roosakasvioletsed (= lillad)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Osaline või täielik inhibitsioon; sinakasrohelistes pesades; sinakasroheline haloga või ilma
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	Kasv: sinakasrohelistes kuni sinised pesad
Inokuleerimata	Värvitud või beežid, läbipaistvad

Kvaliteedikontrolli nõudeid tuleb teostada vastavuses kohalike, osariiklike ja/või riiklike seadustega või akrediteerimisnõuetega ja Teie laboratooriumi standardsete kvaliteedikontrolli protseduuridega. Soovitav on, et kasutaja tutvuks asjakohaste Clinical and Laboratory

Standards Institute'i (Kliiniliste ja Laboratoorsete Standardite Instituudi) (varem NCCLS) juhendis toodud kvaliteedikontrolli kirjeldustega.

PROTSEDUUR

Komplekti kuuluvad materjalid

BD CHROMagar O157 Medium (90 mm **Stacker** söötmeplaadid). Mikrobioloogiliselt kontrollitud.

Mittetagatud materjalid: Täiendavad kultuursöötmed, reagensid, kvaliteedikontrolli organismid ja muud laboriseadmed vastavalt vajadusele.

Proovide tüübid

Kliinilise kasutamise kohta lugege labori protseduureegleid proovi võtmise ja käsitlemise kohta. Seda söödet kasutatakse *Escherichia coli* O157:H7 samastamiseks selle infektsiooni kahtlusega patsientide väljaheiteproovidest või rektaalkaabetest.

Põllumajandussaaduste testimise puhul kasutage sobivaid proovi ettevalmistamise ja töötlemise standardmeetodeid vastavalt proovi tüübile ja geograafilisele piirkonnale.

Vt ka **LÄBIVIIMISE ISELOOMUSTUS JA PROTSEDUURI PIIRANGUD**

Testi protseduur

Jälgige anti- ja aseptika nõudeid. Agari pind peab olema sile ja niiske, kuid mitte liiga niiske.

Kliiniline proov tuleb pärast selle laboratooriumisse saabumist võimalikult kiiresti inokuleerida

BBL CHROMagar O157 plaadile ja isoleerimiseks viirgudena külvata. Kui proov on kultiveeritud tamponilt, rullida tamponi üle väikese ala söötme pinna serval ning pühkida seejärel silmusega laiali. Söötmele võib külvata ka eelrikastussöötmetest. Inkubeerige plaate aeroobselt 35 ± 2 °C juures 18-24 h jooksul ümberpööratult (agariga külg üleval). Teiste soolepatogeenide tuvastamiseks võib külvata ka teistele söötmetele nagu **BD MacConkey II Agar**.

Toidust võetud proovide puhul järgige vastavaid soovitusi ning sobivaid standardmeetodeid.

Inokuleerige inkubeeritud rikastussöödet või skriinitud toiduproovi osakesi söötmele **BBL CHROMagar O157** ning pühkige samastamiseks laiali. Inkubeerige plaate aeroobselt 35 ± 2 °C juures 18-24 h jooksul ümberpööratult (agariga külg üleval).

Tulemused

Tulemuste interpretatsiooniks asetada söötmeplaadid pärast inkubeerimist valgele alusele.

E. coli O157:H7 olemasolul tekivad **BBL CHROMagar O157** söötmele helelilla värvusega pesad.

Enne *E. coli* O157:H7-positiivse tulemuse teatamist tuleb kõik helelillad pesad kontrollida

biokeemiliselt ja/või seroloogiliselt.^{1,2,3,6} Gram-positiivsed organismid tuleks täielikult inhibeerida.

Gram-negatiivsed organismid, mis ei ole *E. coli* O157:H7, inhibeeritakse või need kasvavad värvitute, siniste, roheliste, sinakasroheliste või naturaalselt värvi pesadena.

LÄBIVIIMISE ISELOOMUSTUS JA PROTSEDUURI PIIRANGUD

BD CHROMagar O157 on kromogeenne sööde *E. coli* O157:H7 selektiivseks isoleerimiseks ja samastamiseks kliinilisest ja veterinaarsest materjalist, toiduainetest ja ümbritsevast keskkonnast.

Resultatiivsuse tulemused¹²

Kliinilised katsetused: Ühes suurlinna haiglas uuriti kokku 110 külmutatud väljaheiteproovi ja 16 väljaheiteproovi (10 värsket ja 6 mittevärsket), kasutades söötmeid BBL CHROMagar O157, Sorbitol MacConkey (SMAC) ja Sorbitol MacConkey koos tsefiksiimi ja telluriidiga (SMAC-CT).

Külmutatud väljaheiteproovide hulgas oli 50 *E. coli* O157:H7, 15 *E. coli* mitte-O157, 8 Shiga-toksiin-positiivset *E. coli* mitte-O157 ja 37 muud *Enterobacteriaceae* sugukonda kuuluvat ja mittefermentatiivset gram-negatiivset pulkbakterit. Seitse 16-st väljaheiteproovist osutusid *E. coli* O157:H7-positiivseteks. Sensitiivsus ja spetsiifilisus olid järgmised:

	Sensitiivsus (nr)	Spetsiifilisus (nr)
BBL CHROMagar O157	98 % (56/57)	100 % (69/69)
SMAC	96 % (55/57)	80 % (55/69)
SMAC-CT	100 % (57/57)	93 % (64/69)

Põllumajandussaaduste testimine

BBL CHROMagar O157 tunnustati AOAC-Research Institute'i (AOAC Uurimisinstituut) programmi Performance Tested Methods Program abil.¹² Söödet **BBL CHROMagar O157** hinnati *E. coli* O157:H7 sedastamise osas toores hakklihas ja pastöriseerimata õunaveinis, kasutades positiivseid proove. *E. coli* O157:H7 tuvastamist söötme **BBL CHROMagar O157** abil võrreldi referentssootmeplaatidega FDA BAM, USDA FSIS ja ISO. Referentssootme ja söötme **BBL CHROMagar O157** puhul järgiti soovituslikke rikastamis- ja skriinimisprotseduure. Immunomagnetiline eristus (IMS) teostati vastavalt meetoditele USDA ja ISO. Testitud 180 toiduproovist testiti 45 meetodite FDA BAM ja USDA FSIS abil ning 90 testiti ISO meetodi abil. **BBL CHROMagar O157** andis referentsmeetodite ja toidumaatriksitega võrreldes 100 %-lise sensitiivsuse ja spetsiifilisuse. Toidumaatriksite testimisel valenegatiivseid tulemusi ei saadud. Meetodi **BBL CHROMagar O157** ja referentssootmete kasutamisel ei leitud statistilist erinevust hii-ruudu väärtustes. Teadaolevatest isolaatidest uuriti söötmel **BBL CHROMagar O157** 54 *E. coli* O157:H7 tüve (millest 3 olid liikumatud tüved) ja 32 mitte-*E. coli* O157:H7 tüve ning saadi tulemuseks 100%-line sensitiivsus ja spetsiifilisus. Nende uuringute tulemused näitavad, et sööde **BBL CHROMagar O157** on sama efektiivne *E. coli* O157:H7 sedastamisel toores hakklihas ja pastöriseerimata õunaveinis kui meetodid FDA BAM, USDA FSIS ja ISO. Uuringutulemuste valideerimismeetodite võrdluse kokkuvõte on toodud tabelis 1.

Tabel 1. Valideerimismeetodite võrdlevate tulemuste kokkuvõte

Toidumaatriks	Meetod	Inokulatsiooniaste	Proove kokku	Positiivseid kokku	Referentspositiivsed	CHROMagar O157 - positiivsed	Sobivus meetodiga ¹	Hii-ruut ³
Toores hakkliha	USDA hakkliha	Kõrge	20	15	12	15	85 % ²	1,33
		Madal	20	13	10	13	85 % ²	1,33
		Kontroll	5	0	0	0	-	-
Toores hakkliha	ISO hakkliha	Kõrge	20	17	16	17	95 % ²	0,00
		Madal	20	10	9	10	95 % ²	0,00
		Kontroll	5	0	0	0	-	-
Pastöriseerimata õunavein	ISO vein	Kõrge	20	19	19	19	100 %	0,00
		Madal	20	14	14	14	100 %	0,00
		Kontroll	5	0	0	0	-	-
Pastöriseerimata õunavein	FDA vein	Kõrge	20	13	13	13	100 %	0,00
		Madal	20	10	10	10	100 %	0,00
		Kontroll	5	0	0	0	-	-

¹ Tähistab kinnitatud positiivsete ja negatiivsete proovide protsenti, mis on referentsmeetodite ja söötme **BBL CHROMagar O157** puhul võrdne.

² **BBL CHROMagar O157** meetodi abil tuvastati rohkem positiivseid proove: 3 positiivset proovi rohkem, kui testiti toore hakklihaga USDA/FSIS meetodil ning 1 positiivne proov rohkem, kui testiti toore hakklihaga ISO meetodit kasutades.

³ Hii-ruudu väärtused < 3,84 ei anna p<0,05 juures olulist erinevust.

Protseduuri piirangud

BBL CHROMagar O157 ei samasta *E. coli* mitte-O157:H7 enterohemorraagilisi ega enteropatoogeenseid serotüüpe, kuna need võivad biokeemiliselt erineda. *E. coli* O157:H7 β-glükuronidaas-positiivsed tüvesid ei saa söötme **BBL CHROMagar O157** abil samastada, sellised tüved on haruldased.

BD CHROMagar O157 ei erista toksiine produtseerivaid ja mitteprodutseerivaid *E. coli* O157 tüvesid.

Organismid, mis pole *E. coli* O157:H7, nagu *Proteus* spp. võivad sellel söötmel kasvada, kuid tavaliselt on need teist värvi. Kui söötmel kasvavad isoleerimata lillakad pesad, võib need sedastada teisele **BBL CHROMagar O157** söötmele kultiveerides. On leitud, et *E. coli* haruldased tüved, mis on biokeemiliselt sarnased *Shigella*'ga annavad söötmel **BBL CHROMagar O157** valepositiivseid tulemusi. Soovitatud temperatuurist madalamal temperatuuril inkubeerimine võib pikendada positiivsete reaktsioonide tuvastusaega. Kui inkubeerimistemperatuur on alla 35 ± 2 °C, tuleks söötmeplaatide enne negatiivse tulemuse väljastamist inkubeerida vähemalt 24 h.¹²

Kindla samastamise jaoks on vajalik kordustestimine.^{1-3,6}

Seda söödet tohib kasutada enteropatoogeenidest vaid *E. coli* O157:H7 samastamiseks.

VIITED

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.

PAKKIMISVIIS/KÄTTESAADAVUS

BD CHROMagar O157 Medium

Kat nr 254105

Kasutusvalmis plaatidel sööde, PMÜ 20

LISATEAVE

Lisateabe saamiseks võtke ühendust oma kohaliku BD esindajaga.



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.