



BD BBL CHROMagar O157

Patente EE. UU. N° 6.165.743



*See footnote below

USO PREVISTO

BBL CHROMagar O157 es un medio selectivo para el aislamiento, la diferenciación y la identificación presuntiva de *Escherichia coli* O157:H7 a partir de muestras clínicas, alimentarias, veterinarias y ambientales.

BBL CHROMagar O157 ha sido validado por el AOAC Research Institute bajo el programa de Performance Tested MethodsSM para el análisis de carne bovina picada cruda y DE sidra de manzana sin pasteurizar, cuando se utilizan los métodos FDA BAM, USDA FSIS e ISO¹⁻³.

PRINCIPIOS Y EXPLICACIÓN DEL PROCEDIMIENTO

Método microbiológico.

E. coli O157:H7 es el patógeno que se aísla con más frecuencia en heces sanguinolentas⁴⁻⁶. Sin embargo, la ausencia de diarrea con sangre no descarta la presencia de *E. coli* O157:H7⁷. Este serotipo causa una gran variedad de enfermedades que van de la diarrea no hemorrágica leve a la diarrea hemorrágica intensa (colitis hemolítica), el síndrome urémico hemolítico e incluso la muerte⁴⁻⁶. *E. coli* O157:H7 se aísla con más frecuencia que algunos otros patógenos entéricos habituales, especialmente la *Shigella* en muchas zonas y grupos de edades. Por lo general, la transmisión se produce por la ingestión de carne bovina cruda o poco cocida, pero también ha tenido lugar con otros alimentos⁴⁻⁶. Además, la transmisión puede suceder de persona a persona, así como a través de aguas de uso recreativo⁴⁻⁶.

CHROMagar O157 está diseñado para el aislamiento, la diferenciación y la identificación presuntiva de *E. coli* O157:H7. Debido a los sustratos cromógenos del medio, las colonias de *E. coli* O157:H7 producen un color malva, que permite su identificación presuntiva en la placa de aislamiento primario y su diferenciación de otros organismos. En muestras que contienen cantidades reducidas de *E. coli* O157:H7, puede ser de utilidad la aplicación de métodos de enriquecimiento antes de inocular el medio.

CHROMagar O157 fue desarrollado originalmente por A. Rambach, CHROMagar, París, Francia. BD, bajo un contrato de licencia, ha optimizado esta formulación utilizando propiedad intelectual patentada para la fabricación del medio preparado en placa **BBL CHROMagar O157**.

Peptonas **Difco** especialmente seleccionadas suministran los nutrientes. Con la agregación de telurito potásico, cefixima y cefsulodina, se reduce el número de bacterias que crecen en este medio, pero no de *E. coli* O157:H7. La mezcla cromógena está formada por sustratos artificiales (cromógenos), que liberan compuestos de color insolubles cuando son hidrolizados por una enzima específica. *E. coli* O157:H7 utiliza uno de los sustratos cromógenos que producen colonias de color malva. El crecimiento de colonias malva se considera presuntivo de *E. coli* O157:H7 en **BBL CHROMagar O157**. Otras bacterias diferentes de *E. coli* O157:H7 pueden utilizar otros sustratos cromógenos dando lugar a colonias de color azul o verde azulado o, si no utiliza ningún sustrato cromógeno, pueden aparecer con su color natural. Así se facilita la detección de *E. coli* O157:H7 y su diferenciación con otros organismos.

*EL INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN AOAC EVALUÓ DE FORMA INDEPENDIENTE MUESTRAS DE ESTE MODELO DE KIT DE ANÁLISIS SUMINISTRADAS POR EL FABRICANTE Y HALLÓ QUE CUMPLÍAN LAS ESPECIFICACIONES DEL FABRICANTE INDICADAS EN EL PROSPECTO DESCRIPTIVO DEL KIT DE ANÁLISIS. EL FABRICANTE CERTIFICA QUE ESTE KIT SE AJUSTA EN TODOS LOS SENTIDOS A LAS ESPECIFICACIONES ORIGINALMENTE EVALUADAS POR EL AOAC RESEARCH INSTITUTE INDICADAS EN EL CERTIFICADO DE *Performance Tested Methods* NÚMERO 090501.

REACTIVOS

BBL CHROMagar O157 Medium

Fórmula aproximada* por litro de agua purificada

Cromopeptona	16,0 g
Cloruro sódico	7,0 g
Mezcla cromógena	0,65 g
Telurito potásico	2,5 mg
Cefixima	0,05 mg
Cefsulodina	4,0 mg
Agar	14,0 g

pH: 7,1 ± 0,2

*Ajustada y/o complementada en la medida necesaria para cumplir los criterios de rendimiento.

PRECAUCIONES

IVD . Solamente para uso profesional.

Si se observa humedad excesiva, invertir la parte inferior sobre una tapa desplazada y permitir secar al aire para evitar la estancamiento entre las partes superior e inferior de la placa durante la incubación. Proteger de la luz durante el secado. Véase **ALMACENAMIENTO Y VIDA ÚTIL**. No utilizar las placas si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación, grietas o cualquier otro signo de deterioro.

En las muestras clínicas puede haber microorganismos patógenos, como los virus de la hepatitis y el virus de la inmunodeficiencia humana. Para la manipulación de todos los elementos contaminados con sangre u otros líquidos corporales, deben seguirse las Precauciones estándar⁸⁻¹¹ y las directivas del centro.

En las muestras de alimentos puede haber microorganismos patógenos, incluida la *E. coli* O157. Emplear una técnica aséptica y seguir las precauciones habituales contra riesgos microbiológicos durante todos los procedimientos.

Después de su uso, las placas preparadas, los recipientes de muestras y otros materiales contaminados deben esterilizarse en autoclave antes de ser desechados.

Consultar los procedimientos de manipulación aséptica, riesgos biológicos y desecho del producto usado en el documento **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO**.

CONSERVACIÓN Y VIDA ÚTIL

Al recibir las placas, almacenarlas en un lugar oscuro a una temperatura de 2 a 8 °C, en su envase original hasta justo antes de su uso. Evitar la congelación y el sobrecalentamiento. No abrir hasta que vayan a utilizarse. Las placas pueden inocularse hasta la fecha de caducidad (véase la etiqueta del paquete) e incubarse durante los períodos de incubación recomendados. Permitir que el medio se caliente a temperatura ambiente antes de la inoculación.

Las placas de pilas abiertas de 10 unidades almacenadas en un área limpia a una temperatura de 2 a 8 °C pueden utilizarse durante una semana. **Reducir al mínimo la exposición a la luz antes y durante la incubación, dado que la luz puede destruir los cromógenos.**

CONTROL DE CALIDAD DEL USUARIO

Evaluar el rendimiento mediante la inoculación de una muestra representativa de placas con cultivos puros de organismos de control estables que produzcan reacciones esperadas y conocidas (para obtener los detalles, véase el documento **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO**). Se recomiendan las cepas de prueba mencionadas en la tabla siguiente. Incubar durante 18 a 24 h en atmósfera aerobia a 35 ± 2 °C en lugar oscuro.

Cepas	Resultados del crecimiento
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 ATCC 700728 (=NCTC 12900)	Crecimiento de aceptable a excelente. Colonias de color gris violeta a rosado violeta (= malva).
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibición de parcial a completa; colonias de color azul verdoso; posiblemente rodeadas de un halo azul verdoso.
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	Crecimiento: colonias de color azul verdoso a azul.
Sin inocular	De incoloro a beige claro, transparente.

El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda que el usuario clínico consulte las instrucciones pertinentes del Clinical and Laboratory Standards Institute (antes NCCLS) para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados

BD CHROMagar O157 Medium (placas **Stacker** de 90 mm). Con control microbiológico.

Materiales necesarios pero no suministrados: Medios de cultivo auxiliar, reactivos, microorganismos para control de calidad y otro equipo de laboratorio que se requiera.

Tipos de muestras

Para el uso clínico, consulte los detalles relativos a los procedimientos de recogida y manipulación de muestras en el laboratorio. Este medio se utiliza para el aislamiento de *Escherichia coli* O157:H7 a partir de muestras fecales o torundas rectales de de pacientes con posible infección de esta bacteria.

Para análisis agroalimentario, siga los detalles sobre preparación y procesamiento de muestras de los métodos estándar apropiados para el tipo de muestra y la ubicación geográfica.

Véase también **CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO**.

Procedimiento de análisis

Emplear técnicas asépticas. La superficie del agar debe estar lisa y húmeda, pero sin humedad en exceso.

En el caso de una muestra clínica, tan pronto como sea posible después de su recepción en el laboratorio, inocularla en una placa **BBL CHROMagar O157** y extenderla para su aislamiento.

Si la muestra se cultiva desde una torunda, hacerla girar sobre una zona pequeña de la superficie cercana al borde, para luego extenderla a partir de dicha zona con un asa. Las placas también pueden inocularse con enriquecimientos previos. Incubar las placas en condiciones aerobias a 35 ± 2 °C durante 18 a 24 h en posición invertida (con el lado del agar hacia arriba). También pueden inocularse otros medios, como **BD MacConkey II Agar**, para permitir la detección de otros patógenos entéricos.

En el caso de una muestra de alimento, consultar las referencias oportunas y seguir los métodos estándar correspondientes. Inocular la partícula de muestra de caldo de enriquecimiento incubada o de alimento seleccionada sobre **BBL CHROMagar O157** y extenderla para su aislamiento. Incubar las placas en condiciones aerobias a 35 ± 2 °C durante 18 a 24 h en posición invertida (con el lado del agar hacia arriba).

Resultados

Tras la incubación oportuna, leer las placas contra un fondo blanco. *E. coli* O157:H7 producirá colonias de color malva sobre el medio **BBL CHROMagar O157**. Es necesario confirmar bioquímica y serológicamente las colonias malva antes de notificar la presencia de *E. coli* O157:H7^{1,2,3,6}. Los microorganismos grampositivos deberían estar totalmente inhibidos. Los gramnegativos, aparte de *E. coli* O157:H7, estarán inhibidos o producirán colonias incoloras o de color azul, verde, azul verdoso o natural.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

BD CHROMagar O157 es un medio cromógeno para el aislamiento selectivo y la identificación presuntiva de *E. coli* O157:H7 a partir de muestras clínicas, alimentarias, veterinarias y ambientales.

Resultados de rendimiento¹²

Análisis clínico: En un hospital metropolitano se evaluaron un total de 110 aislados fecales congelados y 16 coprocultivos (10 frescos y 6 archivados) con BBL CHROMagar O157, Sorbitol MacConkey (SMAC) y Sorbitol MacConkey con cefixima y telurito (SMAC-CT). Los aislados

fecales congelados consistieron en 50 *E. coli* O157:H7, 15 *E. coli* no O157, 8 *E. coli* no O157 positivos en toxina Shiga y otras 37 *Enterobacteriaceae* y bacilos gramnegativos no fermentadores. Siete de las 16 heces analizadas dieron resultado positivo a *E. coli* O157:H7. Se observaron las siguientes sensibilidades y especificidades:

	Sensibilidad (nº)	Especificidad (nº)
BBL CHROMagar O157	98 % (56/57)	100 % (69/69)
SMAC	96 % (55/57)	80 % (55/69)
SMAC-CT	100 % (57/57)	93 % (64/69)

Análisis agroalimentario

BBL CHROMagar O157 ha sido validado por el AOAC Research Institute bajo el programa de Performance Tested Methods¹². **BBL CHROMagar** O157 se evaluó para la detección de *E. coli* O157:H7 en carne bovina picada cruda y en sidra de manzana sin pasteurizar usando muestras sembradas. La recuperación de *E. coli* O157:H7 sobre **BBL CHROMagar** O157 se comparó con los medios en placa de referencia para FDA BAM, USDA FSIS e ISO. Para los medios de referencia y para **BBL CHROMagar** O157, se siguieron los procedimientos de enriquecimiento y selección recomendados en las referencias. Se realizó separación inmunomagnética (IMS) siguiendo los métodos de USDA e ISO. De las 180 muestras alimentarias, 45 fueron analizadas usando los métodos FDA BAM y USDA FSIS, y 90 con los métodos ISO. **BBL CHROMagar** O157 produjo una sensibilidad del 100% y una especificidad del 100% en comparación con los métodos de referencia de ambas matrices de alimentos. Al analizar las matrices de alimentos, no hubo resultados negativos falsos. En los análisis de chi cuadrado, no se apreciaron diferencias estadísticas en la recuperación con el método **BBL CHROMagar** O157 con respecto a los medios en placa de referencia. Una serie de aislados conocidos, con 54 cepas de *E. coli* O157:H7 (tres de las cuales era cepas no móviles) y 32 cepas no *E. coli* O157:H7, se evaluaron sobre **BBL CHROMagar** O157 con una sensibilidad y una especificidad del 100%. Los resultados de estos estudios demuestran que **BBL CHROMagar** O157 es un medio eficaz para la recuperación y la detección de *E. coli* O157:H7 en carne bovina picada cruda y en sidra de manzana sin pasteurizar utilizando los métodos FDA BAM, USDA FSIS e ISO. Para un resumen de los resultados de los estudios de comparación de los métodos de validación, véase la tabla 1.

Tabla 1: Resumen de los resultados de los estudios de comparación de los métodos de validación

Matriz de alimento	Método	Nivel de inóculo	Total de muestras	Total de positivos	Positivo de referencia	Positivo de CHROMagar O157	Concordancia de métodos ¹	Chi cuadrado ³
Carne bovina picada cruda	Carne bovina USDA	Alto	20	15	12	15	85% ²	1,33
		Bajo	20	13	10	13	85% ²	1,33
		Control	5	0	0	0	-	-
Carne bovina picada cruda	Carne bovina ISO	Alto	20	17	16	17	95% ²	0,00
		Bajo	20	10	9	10	95% ²	0,00
		Control	5	0	0	0	-	-
Sidra de manzana sin pasteurizar	Sidra ISO	Alto	20	19	19	19	100%	0,00
		Bajo	20	14	14	14	100%	0,00
		Control	5	0	0	0	-	-
Sidra de manzana sin pasteurizar	Sidra FDA	Alto	20	13	13	13	100%	0,00
		Bajo	20	10	10	10	100%	0,00
		Control	5	0	0	0	-	-

¹ Representa el porcentaje del conjunto de muestras positivas y negativas confirmadas que eran equivalentes entre los métodos de referencia y **BBL CHROMagar** O157.

² Muestras positivas adicionales detectadas por el método **BBL CHROMagar** O157: 3 positivos adicionales al analizar carne bovina picada cruda con el método USDA/FSIS y 1 positivo adicional al analizar carne bovina picada cruda con el método ISO.

³ Los valores de chi cuadrado de < 3,84 no indican una diferencia significativa con $p < 0,05$.

Limitaciones del procedimiento

BBL CHROMagar O157 no detecta serotipos enterohemorrágicos o enteropatógenos de *E. coli*, salvo O157:H7, ya que pueden variar bioquímicamente. Las cepas positivas en betaglucuronidasa de *E. coli* O157:H7 no se detectarán con **BBL CHROMagar** O157; sin embargo, esas cepas son infrecuentes.

BBL CHROMagar O157 no diferencia entre las cepas de *E. coli* O157:H7 productoras y no productoras de toxinas.

En este medio pueden crecer otros organismos además de *E. coli* O157:H7, como por ejemplo *Proteus* spp., pero en general producen un color distinto. Si se observan colonias no aisladas de color malva, puede conseguirse su aislamiento mediante el subcultivo en otra placa de **BBL CHROMagar O157**. Se han descubierto cepas infrecuentes de *E. coli* (bioquímicamente similares a *Shigella*) que producen resultados positivos falsos con **BBL CHROMagar O157**. La incubación a temperaturas inferiores a las recomendadas puede retrasar la detección de reacciones positivas. Si la temperatura de incubación es inferior a 35 ± 2 °C, deberían incubarse las placas durante 24 h antes de notificarlas como resultados negativos.¹²

Para la identificación definitiva son necesarias pruebas de confirmación.^{1-3,6}

Este medio no debe utilizarse para el aislamiento de patógenos entéricos que no sean *E. coli* O157:H7.

REFERENCIAS

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.

ENVASE/DISPONIBILIDAD

Medio BD CHROMagar O157

Nº de cat. 254105

Medios en placa listos para usar, 20 placas

INFORMACIÓN ADICIONAL

Para obtener más información, diríjase a su representante local de 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.