

BD BBL CHROMagar O157

US szabadalom szám 6.165.743



*See footnote below

RENDELTETÉS

BBL CHROMagar O157 egy szelektív táptalaj az *Escherichia coli* O157:H7 izolálására, megkülönböztetésére és feltételes azonosítására klinikai, élelmiszer, állatorvosi és környezeti forrásokból.

A BBL CHROMagar O157 vizsgálatot validálta az AOAC kutatóintézet a Teljesítményvizsgált MódszerekSM programjának keretében, a nyers darált marhahús, és nem pasztőrözött almabor esetében, amikor FDA BAM, USDA FSIS és ISO módszereket alkalmaznak.¹⁻³

AZ ELJÁRÁS ELVE ÉS MAGYARÁZATA

Mikrobiológiai módszer.

E. coli O157:H7 a leggyakrabban izolált kórokozó a véres székeletből.⁴⁻⁶ Mindazonáltal, a véres hasmenés hiánya nem zárja ki az *E. coli* O157:H7 jelenlétét.⁷ Ez a szerotípus számos betegségnek okozója, az enyhe nem véres hasmenéstől a súlyos véres hasmenésig (hemolitikus bélhurut), hemolitikus urémiás szindrómáig és a halálig.⁴⁻⁶ Az *E. coli* O157:H7 izolálása túllépi az egyéb közönséges bél-kórokozókat, különösen a *Shigella* tekintetében, számos területen és korcsoportban. Az átadás a leggyakrabban nyers vagy nem eléggé átsütött marhahús lenyelésével történik; de egyéb élelmiszerek is előfordultak.⁴⁻⁶ Ezen kívül, az átadás személytől személyre is történhet, publikus fürdőhelyeken.⁴⁻⁶

CHROMagar O157 rendeltetése az *E. coli* O157:H7 izolálása, megkülönböztetése és feltételes azonosítása. A táptalajban lévő kromogén szubsztrátumok miatt, az *E. coli* O157:H7 telepek mályvaszínűek, ami lehetővé teszi a feltételes azonosításukat és megkülönböztetésüket egyéb mikroorganizmusoktól a primer izolációs lemezen. A csökkent *E. coli* O157:H7 tartalmú minták esetében, a táptalajba való beoltás előtt dúsítási módszerek alkalmazása ajánlott.

CHROMagar O157 eredeti kifejlesztője A. Rambach, CHROMagar, Párizs, Franciaország. Licencegyezség alapján a BD optimalizálta az összetételt, és ehhez a **BBL CHROMagar O157** előállításánál használt lemezes közeget használtuk amely a cég szellemi tulajdonát képezi.

Különlegesen kiválasztott **Difco** peptonok biztosítják a tápanyagot. Kálium-tellurit, cefixim és cefsulodin hozzáadása csökkenti az *E. coli* O157:H7 baktériumtól eltérő mikroorganizmusok számát, amelyek ezen a táptalajon szaporodnak. A kromogén keverék mesterséges szubsztrátumokból áll (kromogének), amelyek oldhatatlan színes vegyületet szabadítanak fel amikor specifikus enzim hidrolizálja. Az *E. coli* O157:H7 a kromogén szubsztrátumok egyikével mályvaszínű telepeket alkot. A mályvaszínű telepek szaporodását az *E. coli* O157:H7 feltételezett jelenlétének tulajdonítják a **BBL CHROMagar O157** táptalajon. Nem-*E. coli* O157:H7 baktériumok egyéb kromogén szubsztrátumokat használhatnak amelyek kék-kékeszöld színű telepeket, vagy amennyiben egyik kromogén szubsztrátumot sem használják a telepek természetes színükben jelennek meg. Ez megkönnyíti az *E. coli* O157:H7 kimutatását és megkülönböztetését egyéb mikroorganizmusoktól.

*FÜGGETLEN MÓDSZEREKKEL ÉRTÉKELTÉK ENNEK A VIZSGÁLATI KÉSZLET MODELLNEK A GYÁRTÓ ÁLTAL BIZTOSÍTOTT MINTÁIT AZ AOAC KUTATÓINTÉZETBEN ÉS MEGÁLLAPÍTÁST NYERT, HOGY MEGFELELNEK A GYÁRTÓ SPECIFIKÁCIÓINAK, A KÉSZLET TÁJÉKOZTATÓJÁBAN SZEREPLŐKNEK MEGFELELŐEN. A GYÁRTÓ SZAVATOLJA, HOGY EZ A KÉSZLET MINDENBEN MEGFELEL AZ AOAC KUTATÓINTÉZET ÁLTAL EREDETILEG VIZSGÁLT SPECIFIKÁCIÓKNAK, A RÉSZLETEKET LÁSD: *Performance Tested Methods*SM TANÚSÍTVÁNY SZÁMA 090501.

REAGENSEK

BD CHROMagar O157 Medium (BD CHROMagar O157 táptalaj)

Megközelítő összetétel*, 1 liter szűrt vízre vonatkoztatva

Kromopepton	16,0 g
Nátrium-klorid	7,0 g
Kromogén keverék	0,65 g
Kálium-tellurit	2,5 mg
Cefixime	0,05 mg
Cefsulodin	4,0 mg
Agar	14,0 g

pH: 7,1 ± 0,2

*Úgy beállítva és/vagy kiegészítve, hogy megfeleljen a teljesítmény követelményeknek.

ÓVINTÉZKEDÉSEK

IVD . Használata szakértelmet igényel.

Amennyiben túl sok a nedvesség, fordítsanak egy alsórészt a fedélre és hagyják levegőben megszáradni, hogy megelőzzék tömítés képződését a lemez teteje és alja között az inkubáció során. Védjék a fényhatásoktól a száradás ideje alatt. lásd **TÁROLÁS ÉS ELTARTHATÓSÁG**. Ne használja a lemezeket, ha azon mikrobiális szennyeződést, elszíneződést, kiszáradást és betöredezést, illetve a károsodás bármilyen más jelét észleli.

A klinikai minták kórokozó mikroorganizmusokat, köztük hepatitis vírusokat és emberi immunhiány vírust (Human Immunodeficiency Virus; HIV) tartalmazhatnak. Szokásos óvintézkedéseket⁸⁻¹¹ és az intézeti irányelveket kell követni amikor vérrel és egyéb testfolyedékokkal szennyezett dolgokat kezelnek.

Kórokozó mikroorganizmusok lehetnek jelen az élelmiszermintákban, beleértve az *E. coli* O157 esetét. Dolgozzon aseptikusan, és vegye figyelembe az összes munkafolyamathoz előírt óvintézkedést a mikrobiológiai veszélyek elkerülése végett.

Használat után a lemezeket, a tárolóedényeket és az egyéb fertőzött anyagokat kidobás előtt autoklavozással fertőtleníteni kell.

A steril munkával, a biológiai veszélyekkel és a használt termékek hulladékként való kezelésével kapcsolatban olvassa el az **ÁLTALÁNOS HASZNÁLATI ÚTMUTATÓT**.

TÁROLÁS ÉS ELTARTHATÓSÁG

Átvétel után felhasználásig, a lemezeket sötét helyen, 2–8 °C hőmérsékleten az eredeti lezárt tasakban tárolja. Kerülni kell a lemezek megfagyását, ill. túlmelegedését. Csak használat előtt bontsa fel. A lemezeket a lejáratú időn belül kell inokulálni (lásd a csomagolás címkéjét), és az előírt inkubációs időt be kell tartani. Inokulálás előtt hagyja a tápközeget szobahőmérsékletre felmelegedni.

A felbontott 10-es csomagolás lemezeit, tiszta helyen, 2–8 °C-on tárolva, egy héten belül fel kell használni. **Az inkubáció előtt és alatt csökkentse minimálisra a fényhatást, mivel a fény tönkretetheti a kromogéneket.**

FELHASZNÁLÓI MINŐSÉG-ELLENŐRZÉS

A teljesítmény ellenőrzéséhez inokuláljon lemezeket stabil kontroll-mikroorganizmusok tiszta tenyészetével, amelyek ismert, várt eredményekhez vezetnek (részleteket, lásd az **ÁLTALÁNOS HASZNÁLATI UTASÍTÁSOK** dokumentumban). Az alábbi táblázatban szereplő teszt törzsek ajánlottak. Inkubálja a lemezeket aerob körülmények között, a sötétben és 35 ± 2 °C hőmérsékleten, 18–24 h.

Törzsek	Szaporodási eredmény
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 ATCC 700728 (=NCTC 12900)	Elégséges vagy kiváló növekedés Telepek színe: szürkés-lila és világoslila (= mályvaszínű) között
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	A gátlás részleges – teljes; a telepek kékeszöldek, körülöttük kékeszöld udvar lehetséges
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	Szaporodás: kékeszöld és kék közötti telepek
Nem inokulált	Színtelen – halvány drapp, áttetsző

A minőségellenőrzési követelmények betartásának összhangban kell lennie a vonatkozó helyi, állami és/vagy szövetségi szabályozásokkal vagy követelményekkel és a végző laboratórium

irányadó minőségellenőrzési eljárásaival. A megfelelő minőségellenőrzési gyakorlat kialakításánál tanácsos figyelembe venni az érvényes CLSI (eredetileg NCCLS, vagyis National Committee for Clinical Laboratory Standards) előírásokat.

ELJÁRÁS

Szállított anyagok

BD CHROMagar O157 Medium (90 mm **Stacker** lemezek) Mikrobiológiailag ellenőrizve.

Szükséges, de nem biztosított anyagok: Kiegészítő táptalajok, reagensek, minőségellenőrzési mikroorganizmusok és egyéb laboratóriumi berendezések, szükség szerint.

Minták típusa

A klinikai használatához, lásd a laboratóriumi eljárásokat a mintavételezési és kezelési eljárások tekintetében. Ezt a táptalajt a gyaníthatóan *Escherichia coli* O157:H7 fertőzött betegek ürülékéből vagy végbél törletéből nyert mintákból való izolálására használják.

A mezőgazdasági termékeknél, kövessék a megfelelő szabványelőírásokat a minta előkészítése és feldolgozása tekintetében, a mintatípus és földrajzi származási hely függvényében.

(Lásd még **TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK ÉS AZ ELJÁRÁS KORLÁTAI**)

A vizsgálat kivitelezése

Aszeptikus eljárás alkalmazása javasolt. Az agar felülete legyen sima és nedves, de felesleges nedvességtől mentes.

A klinikai minták esetében, a laboratóriumba érkezés után a leghamarább oltás **BBL CHROMagar** O157 lemezre és szélessze az izoláláshoz. Amennyiben a tenyésztést közvetlenül a mintavételi pálcáról indítja, forgassa meg a pálcát a táptalaj kis felületén, majd onnét, kacsal szélessze. Alternatívaként, a lemezeket elődúsításból is lehet beoltani. Inkubálja a lemezeket aerob körülmények között 35 ± 2 °C hőmérsékleten 18–24 h keresztül megfordított helyzetben (agar-agar oldal felfelé). Egyéb táptalajok, mint a **BD MacConkey II Agar (MacConkey II Agar)** is be lehet oltani az egyéb bél kórokozók azonosítása érdekében.

Az élelmiszerminták esetében, tekintsék meg a megfelelő hivatkozásokat és kövessék az alkalmazható szabványmódszereket. Oltanak be inkubált dúsító levest vagy szűrt élelmiszermintát részecskét a **BBL CHROMagar** O157 táptalajra és szélesszék az izoláláshoz. Inkubálja a lemezeket aerob körülmények között 35 ± 2 °C hőmérsékleten 18-24 h keresztül megfordított helyzetben (agar-agar oldal felfelé).

Eredmények

A megfelelő inkubáció után, a lemezeket fehér háttér előtt kell leolvasni. Az *E. coli*O157:H7 mályvaszínű telepeket fejleszt a **BBL CHROMagar** O157 Medium. Minden mályvaszínű telepet biokémiaileg és/vagy szerológiailag kell igazolni mielőtt az *E. coli* O157:H7 jelenlétéről beszámolnak.^{1,2,3,6} A gram-pozitív mikroorganizmusokat teljesen kell inhibálni. Az *E. coli* O157:H7 fajtól eltérő gram-negatív mikroorganizmusok gátolva lesznek vagy szintelen, kék, zöld, kékeszöld (aqua) vagy természetes színű telepeket fognak alkotni.

TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK ÉS AZ ELJÁRÁS KORLÁTAI

A BD CHROMagar O157 egy kromogén táptalaj az *E. coli* O157:H7 törzsek szelektív izolálására és feltételes azonosítására klinikai, élelmiszer, állatorvosi, és környezeti mintákból.

Teljesítmény jellemzők¹²

Klinikai vizsgálatok: Összesen 110 fagyasztott fekális izolátumot és 16 széklet tenyészetet (10 friss és 6 archivált) értékelték egy városi kórházban BBL CHROMagar O157, Sorbitol MacConkey (SMAC) és Sorbitol MacConkey, valamint Cefixim és Tellurite (SMAC-CT) alkalmazásával. A fagyasztott fekális izolátumban 50 *E. coli* O157:H7, 15 *E. coli* nem-O157, 8 Shiga-toxin pozitív *E. coli* nem-O157 és 37 egyéb *Enterobacteriaceae* faj és nem-erjedő gram-negatív bacillus volt. A 16 vizsgált székletből 7 bizonyult pozitívnek *E. coli* O157:H7 szempontjából. A következő érzékenységeket tapasztalták:

	Érzékenység (sz.)	Specifikusság (sz.)
BBL CHROMagar O157	98 % (56/57)	100 % (69/69)
SMAC	96 % (55/57)	80% (55/69)
SMAC-CT	100 % (57/57)	93% (64/69)

Mezőgazdasági termékek vizsgálata

A **BBL CHROMagar O157** vizsgálatot validálta az AOAC kutatóintézet a Teljesítményvizsgált Módszerek programjának keretében.¹² **BBL CHROMagar O157** értékelve lett az *E. coli* O157:H7 kimutatása szempontjából nyers darált marhahúsban és nem pasztörözött almaborban, beoltott minták vizsgálata esetén. Az *E. coli* O157:H7 visszanyerhetőségét **BBL CHROMagar O157** táptalajon összehasonlították az FDA BAM, USDA FSIS és ISO lemezes referencia-táptalajokkal. Az ajánlott dúsítási és szűrési eljárásokat követték a referencia táptalaj és a **BBL CHROMagar O157** esetében is. Immunmágneses elkülönítést (IMS) végeztek az USDA és ISO módszereknek megfelelően. A vizsgált 180 élelmiszerminták közül, 45 mintát az FDA BAM és USDA FSIS módszerekkel vizsgáltak, és 90 mintát az ISO módszerekkel. **BBL CHROMagar O157** érzékenysége és specifikussága 100 % volt a referencia módszerekhez viszonyítva mindkét élelmiszer mátrix esetében. Nem fordult elő téves negatív az élelmiszer mátrixok vizsgálata során. Nem tapasztaltak sztatistikai különbséget a visszanyerhetőségnél a **BBL CHROMagar O157** módszer és a lemezes referencia-táptalaj között a k2-statisztika elemzéssel. Ismert izolátumokat, beleértve 54 *E. coli* O157:H7 törzset (amelyek közül 3 nem volt mozgóképes) és 32 nem-*E. coli* O157:H7 törzset értékelték **BBL CHROMagar O157** táptalajon, és 100 % érzékenységet és specifikusságot tapasztaltak. Ezeknek a vizsgálatoknak az eredménye bizonyítja, hogy a **BBL CHROMagar O157** hatékony táptalaj az *E. coli* O157:H7 visszanyerhetőségére és kimutatására nyers darált marhahúsban és nem pasztörözött almaborban az FDA BAM, USDA FSIS és ISO módszerek alkalmazásával. Lásd az 1. táblázatban a validálási módszer összehasonlítási tanulmányának az eredményeit.

1. Táblázat: A validálási módszer összehasonlítási eredményének összefoglalója.

Élelmiszer mátrix	Módszer	Az inokulum szint	Összes minta	Összes pozitív	Referencia pozitív	CHROMagar O157 pozitív	Módszer egyezése ¹	k2-statisztika ³
Nyers darált marhahús	USDA marhahús	Magas	20	15	12	15	85 % ²	1.33
		Alacsony	20	13	10	13	85 % ²	1.33
		Kontroll	5	0	0	0	-	-
Nyers darált marhahús	ISO marhahús	Magas	20	17	16	17	95 % ²	0.00
		Alacsony	20	10	9	10	95 % ²	0.00
		Kontroll	5	0	0	0	-	-
Nem pasztörözött almabor	ISO almabor	Magas	20	19	19	19	100 %	0.00
		Alacsony	20	14	14	14	100 %	0.00
		Kontroll	5	0	0	0	-	-
Nem pasztörözött almabor	FDA almabor	Magas	20	13	13	13	100 %	0.00
		Alacsony	20	10	10	10	100 %	0.00
		Kontroll	5	0	0	0	-	-

¹ A százalékos arányt mutatja a kombinált igazoltan pozitív és negatív minták tekintetében, amelyek egyenértékűek a referencia és **BBL CHROMagar O157** módszerek között.

² További pozitív mintákat azonosítottak a **BBL CHROMagar O157** módszerrel: 3 további pozitív, amikor nyers darált marhahúst vizsgáltak az USDA/FSIS módszerrel és 1 további pozitív amikor nyers darált marhahúst vizsgáltak az ISO módszerrel.

³ k2-statisztika érték < 3,84 azt jelenti, hogy nincs szignifikáns különbség a p<0,05. szinten.

Az eljárás korlátai

BBL CHROMagar O157 nem mutatja ki az *E. coli* bélvérzést okozó vagy bél kórokozó szerotípusait az O157:H7 kivételével, mivel ezek biokémiaailag különbözhetnek. Az *E. coli* O157:H7 β-glucuronidase-pozitív törzsek nem mutathatók ki az **BBL CHROMagar O157** segítségével; mindazonáltal ezek a törzsek ritkán fordulnak elő.

A BD CHROMagar O157 táptalaj nem különbözteti meg a toxint termelő és nem termelő *E. coli* O157:H7 törzseket.

Az *E. coli* O157:H7 mikroorganizmától eltérő fajok, mint pl. a *Proteus* spp. szaporodhat ezen a táptalajon; mindazonáltal, általában különböző színben jelennek meg. Amennyiben nem izolált mályvaszínű telepeket látnak, az izolálást továbboltással lehet elérni egy másik **BBL CHROMagar O157** lemezre. A ritkán előforduló *E. coli* törzsekről (biokémiaailag hasonlóak a *Shigella fajhoz*) megállapították, hogy téves pozitív eredményeket adnak a **BBL CHROMagar**

O157 táptalajon. Az inkubálás az ajánlottnál alacsonyabb hőmérsékleten, késleltetheti a pozitív reakciók érzékelését. Amennyiben the inkubálási hőmérséklet 35 ± 2 °C alatt van, a lemezeket teljes 24 h keresztül kell inkubálni negatív eredmény jelentése előtt.¹²
Megerősítő vizsgálatok szükségesek a végleges azonosításhoz.^{1-3,6}
Ezt a táptalajt nem szabad az *E. coli* O157:H7 kórokozótól eltérő bél kórokozók azonosítására használni.

IRODALOMJEGYZÉK

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.

CSOMAGOLÁS/KISZERELÉSEK

BD CHROMagar O157 táptalaj

Kat. sz. 254105

Használatra kész táptalajok, 20 db/csomag

TOVÁBBI INFORMÁCIÓK

További információkért forduljon a BD helyi képviselőjéhez.



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.