

BD BBL CHROMagar O157



*JAV il duoto patento Nr. 6.165.743

*See footnote below

SKIRTA NAUDOTI

BBL CHROMagar O157 yra selektyvioji terpė *E. coli* O157:H7 kamienų selektyviajam išskirimui, diferencijavimui ir preliminariam identifikavimui klinikiniuose, maisto, veterinariniuose ir aplinkos mėginiuose.

AOAC mokslinių tyrimų institutas pagal programą „Performance Tested MethodsSM“ patvirtino **BBL CHROMagar O157** taikymą tik žalio jautienos faršo ir nepasterizuoto obuolių sidro analizei, kai naudojami FDA BAM, USDA FSIS ir ISO metodai.¹⁻³

METODIKOS PRINCIPAI IR PAAIŠKINIMAS

Mikrobiologinis metodas.

E. coli O157:H7 yra dažniausiai iš kraujingų išmatų išskiriamas patogenas.⁴⁻⁶ Kita vertus, kraujingo viduriavimo nebuvimas neatmeta galimybės, jog esama *E. coli* O157:H7.⁷ Šis serotipas sukelia įvairius susirgimus: nuo lengvojo nekraujingo viduriavimo iki sunkiosios kraujingojo viduriavimo formos (hemolytic colitis), hemolitinio ureminio sindromo ir mirties.⁴⁻⁶ *E. coli* O157:H7 išskyrimo dažnumas daugelyje vietovių ir amžiaus grupių viršija kai kurių kitų dažnai pasitaikančių enterinių patogenų, ypač *Shigella*, dažnumą. Kamienas dažniausiai perduodamas vartojant žalią arba nepakankamai išvirusią jautieną; perdavimas galimas ir vartojant kitus maisto produktus.⁴⁻⁶ Be to, patogenas gali būti perduodamas vieno asmens kitam bei viešuose rekreaciniuose vandens telyse.⁴⁻⁶

CHROMagar O157 yra skirtas *E. coli* O157:H7 kamieno išskirimui, diferencijavimui ir preliminariam identifikavimui. Dėl terpėje esančių chromogeninių substratų *E. coli* O157:H7 kolonijos nusidažo rausvai violetine spalva, o tai leidžia atlikti preliminarių bakterijų identifikavimą jau pirminėje išskyrimo lėkštelėje ir diferencijuoti nuo kitų organizmų. Prieš užsėjant terpę, mėginiams, kuriuose *E. coli* O157:H7 kolonijų skaičius yra nedidelis, gali būti naudinga panaudoti maitinimo metodus.

CHROMagar O157 pirmą kartą sukūrė A. Rambach, CHROMagar (Paryžius, Prancūzija). „BD“ pagal licencinę sutartį optimizavo šią formulę, pasinaudodama intelektinės nuosavybės teisėmis, naudojamomis gaminant **BBL CHROMagar O157** paruoštas terpes lėkštelėse.

Specialiai parinkti **Difco** peptonai tiekia maistines medžiagas. Kalio telūrito, cefiksimo ir cefsulodino priedai sumažina ant šios terpės augančių kitokių nei *E. coli* O157:H7 bakterijų skaičių. Chromogenų mišinys yra dirbtinių substratų (chromogenų), kurie, hidrolizuojant specifiniais fermentais, išskiria netirpius spalvotus junginius. *E. coli* O157:H7 naudoja vieną iš chromogeninių substratų, dėl kurių kolonijos nusidažo rausvai violetine spalva. Rausvai violetinių kolonijų augimas ant **BBL CHROMagar O157** terpės yra tikėtinas požymis, jog esama *E. coli* O157:H7 bakterijų. Ne *E. coli* O157:H7 bakterijos gali naudoti kitokius chromogeninius substratus, kurie kolonijas nudažo melsvai žalia spalva arba, jei nenaudojami jokie chromogeniniai substratai, kolonijos išliks natūralios spalvos. Tai palengvina *E. coli* O157:H7 aptikimą ir atskyrimą (diferencijavimą) nuo kitų organizmų.

*GAMINTOJO PATEIKTI ŠIO MODELIO TYRIMŲ RINKINIO MĖGINIAI BUVO NEPRIKLAUSOMAI ĮVERTINTI AOAC RESEARCH INSTITUTE. NUSTATYTA, KAD MĖGINIAI ATITINKA GAMINTOJO SPECIFIKACIJAS, PATEIKTAS TYRIMŲ RINKINIŲ APRAŠOMUOSIUOSE INFORMACINIUOSE LAPELIUOSE. GAMINTOJAS PATVIRTINA, KAD ŠIS RINKINYS VISAIS ATŽVILGIAIS ATITINKA AOAC MOKSLINIŲ TYRIMŲ INSTITUTO ĮVERTINTAS SPECIFIKACIJAS, KAIP NURODYTA *Performance Tested MethodsSM* SERTIFIKATE NR. 090501.

REAGENTAI

BD CHROMagar O157 Medium [BD CHROMagar O157 terpė]

Apytikrė sudėtis* litrai išgryninto vandens

Chromopeptonas	16,0 g
Natrio chloridas	7,0 g
Chromogenų mišinys	0,65 g
Kalio telūritas	2,5 mg
Cefiksimas	0,05 mg
Cefsulodinas	4,0 mg
Agaras	14,0 g

pH: 7,1 ± 0,2

*Pakoreguota ir (arba) papildyta pagal poreikį, kad atitiktų veikimo kriterijus.

ATSARGUMO PRIEMONĖS

IVD . Tik profesionaliam naudojimui.

Pastebėję pernelyg didelę drėgmę, praverkite dangtelį ir palikite džiūti, kad inkubavimo metu tarp lėkštelės apačios ir viršaus nesusidarytų izoliacinis sluoksniu. Džiovinant reikia saugoti nuo šviesos. žr. **LAIKYMO SĄLYGOS IR TINKAMUMO LAIKAS**. Nenaudokite lėkštelių, jei yra mikrobines taršos, pakitusios spalvos, išdžiūvimo, įskilimo ar kitokių kokybės pablogėjimo požymių.

Klinikiniuose mėginiuose gali būti patogeninių mikroorganizmų, įskaitant hepatito virusą ir žmogaus imunodeficito (ŽIV) virusą. Dirbant su visais elementais, užkrėstais krauju ir kitais kūno skysčiais, būtina laikytis „Standartinių atsargumo priemonių“⁸⁻¹¹ ir įstaigos rekomendacijų. Patogeninių mikroorganizmų, įskaitant ir *E. coli* O157, gali būti maisto produktų mėginiuose. Taikydami visas metodikas laikykitės aseptikos ir nustatytų atsargumo priemonių mikrobiologiniams pavojams išvengti.

Prieš išmetant, panaudotas paruoštas lėkšteles, mėginių indelius ir kitas užterštas medžiagas reikia sterilizuoti autoklave.

Aseptinio naudojimo metodika, biologiniai pavojai ir panaudoto produkto nukenksminimas aprašyta **BENDROSIOSE NAUDOJIMO INSTRUKCIJOSE**.

LAIKYMO SĄLYGOS IR TINKAMUMO LAIKAS

Gautas lėkšteles iki pat naudojimo laikykite tamsioje vietoje 2–8 °C temperatūroje movos pavidalo gamintojo pakuotėje. Negalima užšaldyti ir perkaitinti. Neatidarykite, jei nereikia naudoti. Lėkšteles galima užsėti iki pat galiojimo laiko pabaigos (žr. etiketėje ant pakuotės), o jas inkubuoti – atsižvelgiant į rekomenduojamą inkubavimo laiką. Prieš užsėjimą palaukite, kol terpė įšils iki kambario temperatūros.

Atidarius 10 lėkštelių pakuotę, švarioje aplinkoje, 2–8 °C temperatūroje, lėkšteles galima laikyti iki vienos savaitės. **Iki inkubacijos ir jos metu kiek galėdami labiau venkite šviesos, nes šviesa gali suardyti chromogenus.**

NAUDOTOJO ATLIEKAMA KOKYBĖS KONTROLĖ

Tyrimo veikimą patikrinkite taip: ant standartinių pavyzdinių lėkštelių pasėkite stabilių kontrolinių mikroorganizmų, kurie sukelia žinomas ir norimas reakcijas (išsamesnės informacijos žr.

BENDROSIOSE NAUDOJIMO INSTRUKCIJOSE). Toliau pateiktoje lentelėje yra paminėti rekomenduojami testavimo kamieniai. Inkubuokite aerobinėmis sąlygomis 35 ± 2 °C temperatūroje ir tamsioje 18–24 h.

Kamieniai	Augimo rezultatai
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 ATCC 700728 (=NCTC 12900)	Nuo nemažo iki labai gero. Kolonijų spalva nuo pilkos violetinės iki rausvai violetinės
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Dalinis ar visiškas slopinimas; melsvai žalios spalvos kolonijos, gali būti apsuptos melsvai žalios spalvos žiedu
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	Augimas: nuo melsvai žalios iki mėlynos spalvos kolonijos
Neužsėta	Bespalvė ar šviesios smėlio spalvos, skaidri

Kokybės kontrolės reikalavimai privalo atitikti galiojančias vietines, valstybines ir (arba) federalines taisykles arba akreditacinius reikalavimus, taip pat jūsų laboratorijos standartines kokybės kontrolės procedūras. Naudotojui klinikose rekomenduojama laikytis atitinkamų Klinikinių ir laboratorinių standartų instituto („Clinical and Laboratory Standards Institute“, anksčiau žinomo kaip „National Committee for Clinical Laboratory Standards“ (NCCLS)) rekomendacijų ir CLIA kokybės kontrolės praktinių nurodymų.

METODIKA

Pateiktos medžiagos

BD CHROMagar O157 Medium (90 mm **Stacker** lėkštelės). Mikrobiologiškai kontroliuojama.

Būtinės, bet nepateiktos medžiagos: Papildoma terpė mikrobiologinėms kultūroms, kokybės kontrolės mikroorganizmai ir kitos reikalingos laboratorinės priemonės.

Mėginių rūšys

Klinikiniam naudojimui: išsamios informacijos apie mėginių surinkimo ir tvarkymo procedūras žr. laboratorijos metodikose. Ši terpė naudojama *Escherichia coli* O157:H7 išskyrimui iš išmatų mėginių arba tiesiosios žarnos tepinėlių, paimtų iš pacientų, kurie buvo įtariami, jog yra infekuoti šiuo kamieniu.

Žemės ūkio produktų bandymams: išsamios informacijos apie mėginio paruošimą ir apdorojimą pagal šio mėginio tipą ir geografinę padėtį žr. standartiniuose metoduose.

Taip pat žr. **VEIKIMO CHARAKTERISTIKOS IR METODIKOS APRIBOJIMAI**.

Tyrimo metodika

Laikykitės aseptikos reikalavimų. Agaro paviršius turi būti lygus ir drėgnas, tačiau ne per daug drėgnas.

Į laboratoriją pristatytus klinikinius mėginius kuo galėdami greičiau pasėkite **BBL CHROMagar O157** lėkštelėje; sėkite brūkšniais, kad kolonijos atsiskirtų. Jei medžiaga sėjama nuo tampono, švelniai paritinkite jį mažame paviršiaus plotelyje prie krašto, tada, naudodami kilpelę, iš šio plotelio brūkšniais užsėkite likusį plotą. Be to, lėkšteles galima užsėti sėjiniu, prieš tai praturtintu šiomis bakterijomis. Apverstas lėkšteles 18-24 val. inkubuokite aerobinėmis sąlygomis, 35 ± 2 °C temperatūroje. Kitų enterinių patogenų aptikimui galima naudoti ir kitas terpes, pvz., **BD MacConkey II Agar**.

Informacijos apie maisto produktų mėginių tyrimą ieškokite tam skirtuose vadovuose ir, atlikdami tyrimą, vadovaukitės standartiniais metodais. Užsėkite inkubuotą praturtintą bakterinės kultūros buljoną ar maisto produkto mėginį ant **BBL CHROMagar O157** sėkite brūkšniais, kad kolonijos atsiskirtų. Apverstas lėkšteles 18-24 h. inkubuokite aerobinėmis sąlygomis, 35 ± 2 °C temperatūroje.

Rezultatai

Po inkubacijos apžiūrėkite lėkšteles baltame fone. **CHROMagar** terpėje išauga rausvai violetinės *E. coli* O157:H7 kolonijos. Visos rausvai violetinės kolonijos, prieš užregistruojant jas kaip *E. coli* O157:H7, turi būti patvirtintos biocheminiu ir/arba serologiniu metodu.^{1,2,3,6} Gram-teigiamų organizmų augimas turėtų būti visiškai nuslopintas. Gram-neigiami organizmai, kitokie nei *E. coli* O157:H7, bus arba užslopinti arba jų kolonijos bus bespalvės, mėlynos, žalios, melsvai žalios ar natūralios spalvos.

VEIKIMO CHARAKTERISTIKOS IR PROCEDŪROS APRIBOJIMAI

BD CHROMagar O157 yra chromogeninė terpė *E. coli* O157:H7 kamienų selektyviam išskyrimui ir preliminariam identifikavimui klinikiniuose, maisto, veterinariniuose ir aplinkos mėginiuose.

Veikimo rodikliai¹²

Klinikiniai bandymai: Sostinės lignoninėje, naudojant BBL CHROMagar O157, Sorbitol MacConkey (SMAC) ir Sorbitol MacConkey su cefiksimu ir telūritu (SMAC-CT), iš viso buvo įvertinta 110 užšaldytų išmatų mėginių ir 16 išmatų kultūrų (10 šviežiai paimtų ir 6 saugomų). Užšaldytuose išmatų mėginiuose buvo 50 *E. coli* O157:H7, 15 *E. coli* ne O157, 8 Shiga toksino teigiamos *E. coli* ne O157 ir 37 kitos *Enterobacteriaceae* ir nefermentinės gram-neigiamos

bakterijos. Septyniuose iš ištirtų 16 išmatų mėginių buvo rasta *E. coli* O157:H7 bakterijų. Buvo nustatyti šie tyrimų jautrumo ir specifiškumo rodikliai:

	Jautrumas (nr.)	Specifiškumas (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)

Žemės ūkio produktų tyrimai:

BBL CHROMagar O157 buvo patvirtintas AOAC mokslinių tyrimų institute pagal programą „Performance Tested Methods“.¹² **BBL CHROMagar** O157 buvo įvertintas nustatant *E. coli* O157:H7 žalio jautienos faršo ir nepasterizuoto obuolių sidro pasėliuose. *E. coli* O157:H7 bakterijų augimas **BBL CHROMagar** O157 terpėje buvo lyginamas su lėkštelėse paruoštomis kontrolinėmis FDA BAM, USDA FSIS ir ISO terpėmis. Standartinių mikrobiologinių kultūrų maitinimo ir atrankos procedūrų reikalavimai buvo taikomi tiek kontrolinėms, tiek **BBL CHROMagar** O157 terpei. Imunomagnetinio atskyrimo (Immunomagnetic separation (IMS)) procedūra buvo atliekama vadovaujantis USDA ir ISO metodais. Iš 180 ištirtų maisto produktų mėginių 45 buvo ištirti naudojant FDA BAM ir USDA FSIS metodus, o 90 buvo ištirti naudojant ISO metodus. **BBL CHROMagar** O157, palyginti su kontroliniais metodais, pasižymėjo 100% jautrumu ir 100% specifiškumu abiejų maistinių produktų atžvilgiu. Tiriant maisto produktų mėginius, nė vienas iš jų nebuvo nustatytas, kaip klaidingai neigiamas. Naudojant **BBL CHROMagar** O157 metodą bakterijoms tirti, nebuvo nustatyta jokio Chi kvadrato analize pagrįsto statistinio skirtumo, kai šis metodas buvo lyginamas su kontrolinių terpių lėkštelėmis. Žinomos bakterinės kultūros, įskaitant 54 *E. coli* O157:H7 kamienus (3 iš jų buvo nejudrūs kamienai) ir 32 ne *E. coli* O157:H7 kamienus, buvo auginami ant **BBL CHROMagar** O157 terpės, kurios jautrumas ir specifiškumas šiems patogenams pasireiškė 100%. Šių tyrimų rezultatai parodė, kad **BBL CHROMagar** O157 yra efektyvi *E. coli* O157:H7 kamienų išskyrimo ir aptikimo žaliame jautienos farše ir nepasterizuotame obuolių sidre terpė, kai naudojami FDA BAM, USDA FSIS ir ISO metodai. Žr. 1 lentelę, kurioje pateikta pripažintų metodų lyginamojo tyrimo rezultatų santrauka.

1 lentelė. Pripažintų metodų lyginamojo tyrimo rezultatų santrauka

Maistiniai produktai	Metodas	Pasėlio lygis	Bendras mėginių skaičius	Bendras teigiamų mėginių skaičius	Teigiamų kontrolių skaičius	CHROMagar O157 teigiamų mėginių skaičius	Metodų atitikimas	Chi-kvadratas ³
Žalias jautienos faršas	USDA Beef	Aukštas	20	15	12	15	85 % ²	1,33
		Žemas	20	13	10	13	85 % ²	1,33
		Kontrolė	5	0	0	0	-	-
Žalias jautienos faršas	ISO Beef	Aukštas	20	17	16	17	95 % ²	0,00
		Žemas	20	10	9	10	95 % ²	0,00
		Kontrolė	5	0	0	0	-	-
Nepasterizuotas obuolių sidras	ISO Cider	Aukštas	20	19	19	19	100 %	0,00
		Žemas	20	14	14	14	100 %	0,00
		Kontrolė	5	0	0	0	-	-
Nepasterizuotas obuolių sidras	FDA Cider	Aukštas	20	13	13	13	100 %	0,00
		Žemas	20	10	10	10	100 %	0,00
		Kontrolė	5	0	0	0	-	-

¹ Rodo procentą, apskaičiuotą pagal kartu sudėtų teigiamų ir neigiamų rezultatų, kurie buvo ekvivalentiški lyginant kontrolinį ir **BBL CHROMagar** O157 metodus, skaičių.

² **BBL CHROMagar** O157 metodu buvo nustatyti papildomi teigiami mėginiai: 3 papildomi teigiami, kai žalias jautienos faršas buvo tiriamas USDA/FSIS metodu, ir 1 papildomas teigiamas, kai žalias jautienos faršas buvo tiriamas ISO metodu.

³ Chi kvadrato reikšmės < 3,84 rodo, jog nėra reikšmingo skirtumo, kai $p < 0,05$.

Procedūros apribojimai

BBL CHROMagar O157 netinka kitokių nei O157:H7 *E. coli* enterohemoraginių arba enteropatogeninių serotipų aptikimui, kadangi jie gali skirtis biocheminėmis savybėmis. β-gliukuronidazės atžvilgiu teigiami *E. coli* O157:H7 kamienai nebus aptinkami **BBL CHROMagar** O157 terpėje; kita vertus, tokie kamienai yra aptinkami retai. Naudojant **BD CHROMagar** O157, negalima atskirti toksiną išskiriančių ir neišskiriančių *E. coli* O157:H7 kamienų.

Ant šios terpės gali augti ir kitokie, nei *E. coli* O157:H7, mikroorganizmai, pvz., *Proteus* spp.; tačiau jų kolonijos dažniausiai yra kitokios spalvos. Jei rausvai violetinės kolonijos auga telkiniams, jas galima išskirti persėjant į kitą **BBL CHROMagar** O157 lėkštelę. Nustatyti atvejai, kada retai aptinkami *E. coli* kamienai (biocheminėmis savybėmis panašūs į *Shigella*) lėmė klaidingai teigiamus rezultatus **BBL CHROMagar** O157 terpėje. Lėkštelių inkubavimas žemesnėje nei rekomenduojama temperatūroje gali sulėtinti teigiamų reakcijų pasirodymą. Jei inkubacijos temperatūra žemesnė nei 35 ± 2 °C, lėkštelės turėtų būti inkubuojamos 24 h, prieš registruojant rezultatus kaip neigiamus.¹²

Galutiniam identifikavimui yra būtini patvirtinamieji testai.^{1-3,6}

Šios terpės negalima naudoti kitokiems nei *E. coli* O157:H7 enteriniams patogenams išskirti.

LITERATŪRA

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. Data on file, BD Diagnostic Systems.

PAKUOTĖS/GALIMYBĖ UŽSAKYTI

BD CHROMagar O157 terpė

Katalogo nr. 254105

Paruošta naudoti terpė lėkštelėse; 20 lėkštelių

PAPILDOMA INFORMACIJA

Dēl papildomas informācijas kreipkitēs ģ vietinģ BD atstovā.



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.