



BD BBL CHROMagar O157



U.S. patent nr 6 165 743

*See footnote below

BRUKSOMRÅDE

BBL CHROMagar O157 er et selektivt medium for isolering, differensiering og presumptiv identifisering av *Escherichia coli* O157:H7 fra kliniske prøver, matvare-, veterinær- og miljøprøver. BBL CHROMagar O157 er godkjent av AOACTM-Research Institute under Performance Tested MethodsSM-programmet for analyse av rå kjøttdeig og upasteurisert eplesider når metodene FDA BAM, USDA FSIS og ISO brukes.¹⁻³

PROSEDYRENS PRINSIPPER OG FORKLARING

Mikrobiologisk metode.

E. coli O157:H7 er det patogenet som oftest isoleres fra blodig avføring.⁴⁻⁶ Fravær av blodig diaré utelukker imidlertid ikke tilstedeværelsen av *E. coli* O157:H7.⁷ Denne serotypen fører til et bredt spekter av sykdommer fra mild diaré uten blod, til alvorlig, blodig diaré (hemolytisk kolitt), hemolytisk uremisk syndrom og død.⁴⁻⁶ Isolering av *E. coli* O157:H7 overgår enkelte andre vanlige tarmpatogener, spesielt *Shigella* på mange områder og for mange aldersgrupper. Overføringen skjer som oftest gjennom inntak av rått eller for lite kokt/-stekt storfekjøtt, andre matvarer har også vært årsak.⁴⁻⁶ I tillegg kan overføringen skje fra person til person, så vel som fra rekreasjonsvannkilder.⁴⁻⁶

CHROMagar O157 er tiltenkt for isolering, differensiering og presumptiv identifisering av *E. coli* O157:H7. På grunn av de kromogene substratene i mediet, vil kolonier av *E. coli* O157:H7 produsere en rosa-lilla farge, noe som muliggjør presumptiv identifisering fra den primære isoleringsskålen og differensiering fra andre organismer. I prøver med lave antall av *E. coli* O157:H7, kan det være nyttig med anrikningsmetoder før mediet inokuleres.

CHROMagar O157 ble opprinnelig utviklet av A. Rambach, CHROMagar i Paris, Frankrike. BD har, under lisensavtale, optimalisert denne oppskriften ved å dra nytte av egen åndsrett, til bruk i produksjonen av den ferdiglagde agarskålen **BBL CHROMagar O157**.

Spesielt utvalgte **Difco**TM-peptoner tilfører næringsstoffene. Tilsetting av kaliumtelluritt, cefiksime og cefsulodin reduserer antall andre bakterier enn *E. coli* O157:H7 som vokser på dette mediet. Kromogenblandingen består av syntetiske substrater (kromogener), som slipper ut en ikke-løselig farget sammensetning når de hydrolyseres av et spesifikt enzym. *E. coli* O157:H7 bruker ett av de kromogene substratene til å produsere rosa-lilla kolonier. Veksten av de rosa-lilla koloniene ansees som presumptiv for *E. coli* O157:H7 på **BBL CHROMagar O157**. Andre bakterier enn *E. coli* O157:H7 kan bruke andre kromogene substrater som resulterer i blå til blågrønne kolonier. Hvis ingen av de kromogene substratene brukes, kan koloniene opptre i sin naturlige farge. Dette forenkler påvisning og differensiering av *E. coli* O157:H7 fra andre organismer.

*PRODUSENTELEVERTE PRØVER AV DENNE TESTKITMODELLEN ER UAVHENGIG EVALUERT AV AOAC RESEARCH INSTITUTE, OG BLE FUNNET Å FUNGERE I SAMSVAR MED PRODUSENTENS SPESIFIKASJONER, SOM ANGITT I DET BESKREVNE PAKNINGSVEDLEGGET FOR TESTKITTET. PRODUSENTEN SERTIFISERER DETTE KITTET FOR ALLE OMSTENDIGHETER NÅR DET GJELDER SPESIFIKASJONENE SOM OPPRINNELIG BLE EVALUERT AV AOAC RESEARCH INSTITUTE, SOM ANGITT I *Performance Tested Methods*SM, SERTIFIKATNUMMER 090501.

REAGENSER

BD CHROMagar O157 Medium

Omtrentlig sammensetning* per liter renset vann

Kromopepton	16,0 g
Natriumklorid	7,0 g
Kromogenblanding	0,65 g
Kaliumtelluritt	2,5 mg
Cefiksim	0,05 mg
Cefsulodin	4,0 mg
Agar	14,0 g

pH: 7,1 ± 0,2

*Justert og/eller tilsatt som påkrevd for å oppfylle funksjonskriteriene.

FORHOLDSREGLER

IVD. Kun til profesjonelt bruk.

Dersom det dannes for mye fuktighet, skal bunnen snus og plasseres halvveis over et lokk, for å la den lufttørke. Dette for å unngå dannelse av et tett lag mellom toppen og bunnen av skålen under inkuberingen. Skal beskyttes mot lys under tørking. Se **OPPBEVARING OG HOLDBARHET**.

Agarskålene må ikke anvendes dersom de viser tegn til mikrobiell kontaminering, misfarging, uttørking, sprekkdannelse eller andre tegn til svekkelse.

Patogene mikroorganismer, blant annet hepatittvirus og humant immunsviktivirus (HIV) kan forekomme i kliniske prøver. Standard forsiktighetsregler⁸⁻¹¹ og institusjonsretningslinjene skal følges ved håndtering av alle materialer som er kontaminert med blod og andre kroppsvæsker.

Patogene mikroorganismer, som *E. coli* O157, kan finnes i matvareprøver. Bruk aseptiske teknikker og etablerte forholdsregler mot mikrobiologiske farer under alle prosedyrene.

Alle ferdiglagde agarskåler, prøvebeholdere og annet kontaminert materiale må steriliseres ved autoklaving etter bruk før de kastes.

Se dokumentet **GENERELLE BRUKSANVISNINGER** for aseptiske håndteringsprosedyrer, biologiske farer og avhending av brukte produkter.

OPPBEVARING OG HOLDBARHET

Agarskålene oppbevares etter mottak i originalinnpakningen på et mørkt sted med temperatur fra 2 til 8 °C, inntil de skal brukes. Unngå frost og overopphetning. Må ikke åpnes før bruk.

Agarskålene kan inokuleres frem til utløpsdatoen (se etiketten på pakken) og inkuberes i de anbefalte inkubasjonstider. La mediet oppvarmes til romtemperatur før inokulering.

Agarskåler fra åpne stabler på 10 skåler kan brukes i én uke når de oppbevares på et rent sted ved 2 til 8 °C. **Minimer eksponering for lys før og under inkubering, da lyset kan ødelegge kromogenene.**

BRUKERKVALITETSKONTROLL

Sjekk funksjonen ved å inokulere et representativt utvalg av skåler med renkulturer av stabile kontrollorganismer som produserer kjente, ønskede reaksjoner (se dokumentet **GENERELLE BRUKSANVISNINGER** for detaljer). Teststammene som nevnes i tabellen nedenfor, anbefales. Inkuber aerobt i 18 til 24 timer ved 35 ± 2 °C på et mørkt sted.

Stammer	Vekstresultater
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 ATCC 700728 (=NCTC 12900)	Ganske god til fremragende vekst. Gråfiolette til rosa-lilla kolonier
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Hemningen er delvis til fullstendig; kolonier er blågrønne som kan være omgitt av en blågrønn ring
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	Vekst: blågrønne til blå kolonier
Ikke-inokulert	Fargeløs til lys beige, gjennomiktig

Kvalitetskontrollkravene må utføres i samsvar med gjeldende lokalt og/eller nasjonalt regelverk, eller akkrediteringskravene og laboratoriets standardprosedyrer for kvalitetskontroll. Det anbefales at kliniske brukere refererer til relevante retningslinjer for gjeldende kvalitetskontrollpraksis fra Clinical and Laboratory Standards Institute (tidligere NCCLS).

PROSEDYRE

Materialer som følger med

BD CHROMagar O157 Medium (90 mm **Stacker**-skåler). Mikrobiologisk kontrollert.

Nødvendige materialer som ikke følger med: Supplerende vekstmedier, reagenser, kvalitetskontrollorganismer og laboratorieutstyr etter behov.

Prøvetyper

Se lab-prosedyrer for detaljer om prosedyrer for prøvesamling og håndtering ved klinisk bruk. Dette mediet brukes for isolering av *Escherichia coli* O157:H7 fra avføringsprøver eller prøver på bomullspinne fra rektum på pasienter som mistenkes å være infisert med denne organismen. For testing av landbruksmatvarer skal gjeldende standardmetoder for detaljer om prøveforberedelse og -behandling følges i henhold til prøvetypen og geografisk sted. Se også **FUNKSJONSDATA OG PROSEDYRENS BEGRENSNINGER**.

Testprosedyre

Bruk aseptiske teknikker. Agar-overflaten skal være jevn og fuktig, men uten for mye fuktighet. Så snart som mulig etter at kliniske prøver mottas av laboratoriet, skal de inokuleres på en **BBL CHROMagar O157**-skål, og strykes ut for isolering. Hvis prøven kultiveres fra en bomullspinne, kan den rulles over et lite område av agaroverflaten ved kanten av skålen, og deretter strykes ut fra dette området med en øse. Agarskålene kan alternativt inokuleres fra presanrikningsmedier. Inkuber skålene aerobt ved 35 ± 2 °C i 18–24 timer, i snudd stilling (agar-siden opp). Andre medier, som **BD MacConkey II Agar**, kan også inokuleres for å påvise andre tarmpatogener.

Se gjeldende referanser og følg gjeldende standardmetoder for matvareprøver. Inokuler inkuberte, anrikete vekstmedier eller screenede matvareprøvepartikler på **BBL CHROMagar O157** og stryk ut for isolering. Inkuber skålene aerobt ved 35 ± 2 °C i 18–24 timer, i snudd stilling (agar-siden opp).

Resultater

Etter korrekt inkubering skal skålene avleses mot en hvit bakgrunn. *E. coli* O157:H7 vil produsere rosa-lilla kolonier på mediet **BBL CHROMagar O157**. Alle rosa-lilla kolonier må bekreftes biokjemisk og/eller serologisk før rapportering av *E. coli* O157:H7.^{1,2,3,6} Gram-positive organismer bør være fullstendig hemmet. Andre Gram-negative organismer enn *E. coli* O157:H7, vil enten være hemmet eller produsere fargeløse, blå, grønne, blågrønne (aqua) kolonier, eller kolonier med naturlig farge.

FUNKSJONSDATA OG PROSEDYRENS BEGRENSNINGER

BD CHROMagar O157 er et kromogent medium for selektiv isolering og presumptiv identifisering av *E. coli* O157:H7 fra kliniske prøver, matvare-, veterinær- og miljøprøver.

Funksjonsresultater¹²

Klinisk testing: Totalt 110 frosne avføringsisolater og 16 avføringskulturer (10 ferske og 6 arkiverte) ble evaluert ved et sykehus i en storby med **BBL CHROMagar O157**, Sorbitol MacConkey (SMAC) og Sorbitol MacConkey med cefiksim og telluritt (SMAC-CT). De frosne avføringsisolatene bestod av 50 *E. coli* O157:H7, 15 *E. coli* non-O157, 8 Shiga-toksinpositive *E. coli* non-O157 og 37 andre *Enterobacteriaceae* og ikke-fermentative, gram-negative staver. Sju av de 16 avføringsprøvene som ble testet, ble funnet positive for *E. coli* O157:H7. Følgende sensitiviteter og spesifisiteter ble funnet:

	Sensitivitet (nr)	Spesifisitet (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)

Testing av landbruksmatvarer

BBL CHROMagar O157 ble godkjent av AOAC-Research Institute under Performance Tested Methods Programmet.¹² **BBL CHROMagar O157** ble evaluert for påvisning av *E. coli* O157:H7 i

rå kjøttdeig og upasteurisert eplėsider med utsådde prøver. Gjenfinnelsen av *E. coli* O157:H7 på **BBL CHROMagar** O157 ble sammenlignet med FDA BAM, USDA FSIS og ISO referansemedia. Referansen anbefalte anrikning, og screening-prosedyrene ble fulgt for referansemediene og **BBL CHROMagar** O157. Immunomagnetisk separering (IMS) ble utført i samsvar med metodene USDA og ISO. Av de 180 testede matvareprøvene, ble 45 testet med metodene FDA BAM og USDA FSIS, og 90 ble testet med ISO-metodene. **BBL CHROMagar** O157 ga en sensitivitet på 100 % og spesifisitet på 100 %, sammenlignet med referansemetodene for begge matvarematrisene. Det ble ikke funnet falske negative i testene av matvarematrisene. Det ble ikke funnet statistisk forskjell i gjenfinnelse med **BBL CHROMagar** O157-metoden, sammenlignet med referansemediene, basert på Chi-square-analyse. Kjente isolater, inkludert 54 stammer av *E. coli* O157:H7 (hvorav 3 var ubevegelige stammer) og 32 non-*E. coli* O157:H7-stammer, ble evaluert på **BBL CHROMagar** O157 med sensitivitet og spesifisitet på 100 %. Resultatene av disse studiene viser at **BBL CHROMagar** O157 er et effektivt medium for gjenfinnelse og påvisning av *E. coli* O157:H7 i rå kjøttdeig og upasteurisert eplėsider med metodene FDA BAM, USDA FSIS og ISO. Se tabell 1 for oppsummering av resultatene fra sammenligningsstudien for godkjenningmetoder.

Tabell 1: Oppsummering av resultater fra sammenligning av godkjenningmetodene

Matvare Matrise	Metode	Inokulering snivå	Totalt antall prøver	Positive totalt	Referanse, positive	CHROMagar O157- positive	Metodeavtale ¹	Chi-Square ³
Rå kjøttdeig	USDA Beef	Høy	20	15	12	15	85 % ²	1.33
		Lav	20	13	10	13	85 % ²	1.33
		Kontroll	5	0	0	0	-	-
Rå kjøttdeig	ISO-beef	Høy	20	17	16	17	95 % ²	0,00
		Lav	20	10	9	10	95 % ²	0,00
		Kontroll	5	0	0	0	-	-
Upasteurisert eplėsider	ISO-sider	Høy	20	19	19	19	100 %	0,00
		Lav	20	14	14	14	100 %	0,00
		Kontroll	5	0	0	0	-	-
Upasteurisert eplėsider	FDA-sider	Høy	20	13	13	13	100 %	0,00
		Lav	20	10	10	10	100 %	0,00
		Kontroll	5	0	0	0	-	-

¹ Står for prosentandelen av bekreftede positive og negative prøver, kombinert, som var ekvivalente mellom referansen og **BBL CHROMagar** O157-metodene.

² Ytterligere positive prøver, påvist med **BBL CHROMagar** O157-metoden: 3 ytterligere positive resultater ved testing av rå kjøttdeig med USDA-/FSIS-metodene og 1 ytterligere positiv ved testing av rå kjøttdeig med ISO-metoden.

³ Chi-square-verdier på < 3,84 indikerer ingen signifikant forskjell ved p < 0,05.

Prosedyrens begrensninger

BBL CHROMagar O157 påviser ikke andre enterohemorragiske eller enteropatogene serotyper av *E. coli* enn O157:H7, da disse kan være biokjemisk ulike. β -glucuronidase-positive stammer av *E. coli* O157:H7 vil ikke bli påvist på **BBL CHROMagar** O157. Disse stammene er imidlertid sjeldne.

BBL CHROMagar O157 differensierer ikke mellom toksinproduserende og ikke-toksinproduserende stammer av *E. coli* O157:H7.

Andre organismer enn *E. coli* O157:H7, som *Proteus* spp. kan vokse på dette mediet, de produserer imidlertid vanligvis en annen farge. Dersom det påvises ikke-isolerte, rosa-lilla kolonier, kan isolering oppnås ved subkultivering til en annen **BBL CHROMagar** O157-skål. Sjeldne stammer av *E. coli* (biokjemiske lik *Shigella*) er funnet å produsere falske, positive resultater på **BBL CHROMagar** O157. Inkubering ved lavere temperaturer enn anbefalt kan forsinke påvisningen av positive reaksjoner. Hvis inkuberingstemperaturen er lavere enn 35 ± 2 °C, bør skålene inkuberes i hele 24 timer før de rapporteres som negative.¹²

Konfirmasjonstester er nødvendig for definitiv identifikasjon.^{1-3,6}

Dette mediet må ikke brukes for isolering av andre tarmpatogener enn *E. coli* O157:H7.

REFERANSER

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* 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 i arkiv hos BD Diagnostic Systems.

EMBALLASJE/BESTILLING

BD CHROMagar O157 Medium

Kat. nr 254105

Ferdiglagde agarskåler, 20 stk.

YTTERLIGERE INFORMASJON

Kontakt din lokale BD-representant for ytterligere informasjon.



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.