



BD BBL CHROMagar O157

Patent S.U.A. nr. 6,165,743



*See footnote below

UTILIZARE SPECIFICĂ

BBL CHROMagar O157 este un mediu selectiv pentru izolare, diferențiere și identificare prezumtivă a *Escherichia coli* O157:H7 din surse clinice, alimentare, veterinare și ambientale. **BBL CHROMagar O157** a fost validat de Institutul de cercetare AOAC™ în programul Performance Tested MethodsSM pentru a analiza carnea crudă tocată de vită și sucul de mere nepasteurizat atunci când se utilizează metodele FDA BAM, USDA FSIS și ISO.¹⁻³

PRINCIPIILE ȘI EXPLICAȚIILE PROCEDURII

Metodă microbiologică.

E. coli O157:H7 este agentul patogen cel mai frecvent izolat din materiile fecale cu sânge.⁴⁻⁶ Totuși, absența diareei cu sânge nu exclude prezența *E. coli* O157:H7.⁷ Acest serotip determină o gamă largă de boli, care variază de la diaree ușoară fără sânge până la diaree severă cu sânge (colită hemoragică), sindrom hemolitic uremic și moarte.⁴⁻⁶ Izolarea *E. coli* O157:H7 depășește pe cea a altor patogeni enterici comuni, în special *Shigella*, în multe zone geografice și pe diferite grupe de vârstă. Cel mai frecvent transmiterea se realizează prin ingerarea de carne de vită crudă sau insuficient preparată; au fost implicate de asemenea și alte tipuri de alimente.⁴⁻⁶ În plus, transmiterea se poate produce de la o persoană la alta, dar și din surse de apă recreaționale.⁴⁻⁶

CHROMagar O157 este realizat pentru izolarea, diferențierea și identificarea prezumtivă a *E. coli* O157:H7. Datorită substraturilor cromogenice din mediu, coloniile de *E. coli* O157:H7 produc o culoare mov, permițând astfel identificarea prezumtivă pe placa de izolare primară și diferențierea de alte organisme. În probele cu un număr mic de *E. coli* O157:H7, metodele de îmbogățire pot fi de ajutor înainte de inocularea mediului.

CHROMagar O157 a fost realizat inițial de A. Rambach, CHROMagar, Paris, Franța. BD, sub un acord de licență, a optimizat această formulare utilizând proprietatea intelectuală a inițiatorului utilizată în producerea mediului **BBL CHROMagar O157** preparat pe plăci.

Peptonele special selectate **Difco** furnizează nutrienții. Adiția de telurit de potasiu, cefixim și cefsulodin reduce numărul de bacterii, altele decât *E. coli* O157:H7 care cresc pe acest mediu. Amestecul cromogen este alcătuit din substraturi (cromogeni), care eliberează un compus colorat, insolubil atunci când este hidrolizat de o enzimă specifică. *E. coli* O157:H7 utilizează unul din substraturile cromogenice producând colonii de culoare mov. Creșterea coloniilor mov este considerată prezumtivă pentru *E. coli* O157:H7 pe mediul **BBL CHROMagar O157**. Bacteriile non-*E. coli* O157:H7 pot utiliza alte substraturi cromogenice rezultând colonii colorate în albastru spre albastru-verzui sau dacă nici unul din substraturile cromogenice nu este utilizat, coloniile pot apărea în culoarea lor naturală. Aceasta facilitează detectarea și diferențierea *E. coli* O157:H7 de alte organisme.

*EȘANTIOANE DIN ACEST MODEL DE KIT DE TESTARE AU FOST FURNIZATE DE CĂTRE PRODUCĂTOR ÎN VEDEREA EVALUĂRII INDEPENDENTE LA AOAC RESEARCH INSTITUTE UNDE S-A CONSTATAT CĂ ACESTEA CORESPUND SPECIFICAȚIILOR CONFORM DECLARAȚIILOR DIN PROSPECTUL KITULUI. PRODUCĂTORUL CERTIFICĂ CONFORMAREA DE CĂTRE ACEST KIT DIN TOATE PUNCTELE DE VEDERE LA SPECIFICAȚIILE EVALUATE DE CĂTRE AOAC RESEARCH INSTITUTE AȘA CUM ESTE DETALIIAT ÎN CERTIFICATUL *Performance Tested Methods*SM NUMĂRUL 090501.

REACTIVI

BD CHROMagar O157 Medium

Formula* aproximativă pentru un litru de apă purificată

Cromopeptonă	16,0 g
Clorură de sodiu	7,0 g
Amestec cromogen	0,65 g
Telurit de potasiu	2,5 mg
Cefixim	0,05 mg
Cefsulodin	4,0 mg
Agar	14,0 g

pH: 7,1±0,2

*Ajustată și/sau suplimentată după cum este necesar pentru a îndeplini criteriile de performanță.

PRECAUȚII

IVD . Numai pentru uz profesional.

Dacă se observă umiditate excesivă, răsturnați placa peste capac și lăsați-o la uscat pentru a preveni etanșeizarea plăcii în timpul incubăției. Feriți de lumină în timpul uscării. Consultați **DEPOZITAREA ȘI DURATA DE DEPOZITARE**.

Nu utilizați plăcile dacă prezintă semne de contaminare microbiană, decolorare, deshidratare, fisuri sau alte semne de deteriorare.

În eșantioanele clinice pot fi prezente microorganisme patogene, inclusiv virusurile hepatitice și virusul imunodeficienței umane. La manevrarea tuturor elementelor contaminate cu sânge și alte lichide biologice trebuie respectate precauțiile standard⁸⁻¹¹ și regulamentul instituției. Microorganismele patogene, inclusiv *E. coli* O157, pot fi prezente în probele alimentare. În timpul tuturor procedurilor, respectați tehnicile de asepsie și precauțiile împotriva riscurilor microbiologice.

După utilizare, plăcile preparate, recipientele probelor și alte materiale contaminate trebuie sterilizate prin autoclavare, înainte de a fi aruncate.

Consultați documentul **INSTRUCȚIUNI GENERALE DE UTILIZARE** pentru detalii referitoare la procedurile de manipulare aseptice, riscurile biologice și înlăturarea produselor utilizate.

DEPOZITAREA ȘI DURATA DE DEPOZITARE

La recepție, depozitați plăcile la întuneric la 2 până la 8°C, în ambalajul original până în momentul utilizării. Evitați congelarea sau supraîncălzirea. Deschideți numai înainte de utilizare. Plăcile pot fi inoculate până la expirarea termenului de valabilitate (consultați eticheta ambalajului) și pot fi incubate pentru perioadele recomandate de incubare. Lăsați mediul să ajungă la temperatura camerei înainte de inoculare.

Plăcile dintr-un teanc de 10 plăci desfăcut pot fi utilizate timp de o săptămână dacă sunt depozitate într-o zonă curată între 2 și 8°C. **Evitați expunerea la lumină atât înainte cât și în timpul incubăției, deoarece lumina poate distruge cromogenii.**

CONTROLUL CALITĂȚII EFECTUAT DE UTILIZATOR

Verificați performanța prin inocularea unor culturi pure de organisme martor stabile, producătoare de reacții cunoscute și de referință, pe eșantioane reprezentative de plăci (pentru informații suplimentare, consultați documentul **INSTRUCȚIUNI GENERALE DE UTILIZARE**). Pentru testare sunt recomandate tulpinile menționate în tabelul de mai jos. Incubați în mediu aerob timp de 18 până la 24 de ore, la o temperatură de 35 ± 2°C, la întuneric.

StrainsTulpini	Rezultate de creștere
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 ATCC 700728 (=NCTC 12900)	Creștere acceptabilă spre excelentă. Colonii gri violet spre trandafirii-violet (= mov)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibiție parțială spre completă; colonii albastre-verzui; pot fi înconjurate de un halou albastru-verzui
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	Creștere: colonii albastru-verzui spre albastru
Neinoculat	Incolor până la bej deschis, transparent

Cerințele controlului de calitate trebuie realizate conform reglementărilor aplicate local, național și/sau federal sau cerințelor de acreditare și procedurilor de laborator standard pentru controlul de calitate. Se recomandă ca utilizatorul clinic să apeleze la ghidurile adecvate Clinical and Laboratory Standards Institute (fost NCCLS) pentru tehnici adecvate ale controlului calității.

PROCEDURĂ

Materiale furnizate

BD CHROMagar O157 Medium (plăci **Stacker** de 90 mm). Controlate microbiologic.

Materiale necesare, dar nefurnizate: Medii de cultură auxiliare, reactivi, organisme pentru controlul de calitate și echipament de laborator conform cerințelor.

Tipuri de probe

Pentru uz clinic, consultați procedurile de laborator pentru detalii referitoare la metodele de colectare și manipulare a probelor. Acest mediu este folosit pentru izolarea *Escherichia coli* O157:H7 din probe de materii fecale sau tampoane rectale de la pacienții suspecți de infecția cu acest agent patogen.

Pentru testarea produselor agroalimentare, urmați metodele standard adecvate pentru detalii privind prepararea și prelucrarea probei în concordanță cu tipul probei și zona geografică.

De asemenea, consultați **CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ ȘI LIMITĂRILE PROCEDURII**,

Procedură de testare

Respectați tehnicile de asepsie. Suprafața de agar trebuie să fie omogenă și umedă, dar nu excesiv de umedă.

Pentru probele clinice, cât mai repede posibil după primirea în laborator, inoculați pe placa **BBL CHROMagar O157** și însămânțați pentru izolare. Dacă proba este cultivată direct dintr-un tampon, rotiți tamponul pe o arie mică la marginea suprafeței, apoi însămânțați din această arie cu o ansă. Ca metodă alternativă, plăcile pot fi inoculate de la agenți îmbogățiți în prealabil. Incubați plăcile în mediu aerob la $35 \pm 2^\circ\text{C}$ timp de 18–24 h într-o poziție inversată (partea cu agar în sus). Alte medii, cum ar fi **BD MacConkey II Agar**, pot fi de asemenea inoculate pentru a asigura detectarea altor agenți patogeni enterici.

Pentru probele alimentare, consultați referințele corespunzătoare și urmați metodele aplicabile, standard. Inoculați bulion incubat și îmbogățit sau particule de probe alimentare testate pe **BBL CHROMagar O157** și însămânțați pentru izolare. Incubați plăcile în mediu aerob la $35 \pm 2^\circ\text{C}$ timp de 18–24 h într-o poziție inversată (partea cu agar în sus).

Rezultate

După o incubare corespunzătoare, citiți plăcile pe un fond alb. *E. coli* O157:H7 va forma colonii colorate în mov pe mediul **BBL CHROMagar O157**. Toate coloniile colorate în mov trebuie confirmate din punct de vedere biochimic și/sau serologic înainte de a fi raportate ca *E. coli* O157:H7.^{1,2,3,6} Organismele gram-pozitive trebuie să fie inhibitate complet. Organismele gram-negative, altele decât *E. coli* O157:H7, fie vor fi inhibitate, fie vor produce colonii incolore, albastre, verzi, albastre-verzi (apă) sau culoarea naturală.

CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ ȘI LIMITĂRILE PROCEDURII

BD CHROMagar O157 este un mediu selectiv pentru izolarea și identificarea prezumtivă a *E. coli* O157:H7 din surse clinice, alimentare, veterinare și ambientale.

Performanța rezultatelor¹²

Testarea clinică: Un total de 110 izolate din fecale înghețate și 16 coproculturi (10 proaspete și 6 din arhivă) au fost evaluate la un spital metropolitan folosind BBL CHROMagar O157, Sorbitol MacConkey (SMAC) și Sorbitol MacConkey cu cefixim și telurit (SMAC-CT). Izolatele fecale înghețate au fost alcătuite din 50 *E. coli* O157:H7, 15 *E. coli* non-O157, 8 Shiga-toxin pozitive *E. coli* non-O157 și 37 alte *Enterobacteriaceae* și bacili nefermentivi gram-negativi. Șapte din cele

16 coproculturi testate au fost pozitive pentru *E. coli* O157:H7. Au fost observate următoarele sensibilități și specificități:

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

Testarea produselor agroalimentare

BBL CHROMagar O157 a fost validat de Institutul de Cercetare AOAC în programul Performance Tested Methods.¹² **BBL CHROMagar O157** a fost evaluat pentru detectarea *E. coli* O157:H7 în carnea de vită crudă și sucul de măr nepasteurizat, folosind probe însămânțate. Recuperarea *E. coli* O157:H7 pe **BBL CHROMagar O157** a fost comparată cu cea de pe plăcile cu mediile de referință FDA BAM, USDA FSIS și ISO. Pentru mediile de referință și **BBL CHROMagar O157** au fost urmate procedurile standard de îmbogățire și testare, recomandate. Separarea imunomagnetică (IMS) s-a făcut în concordanță cu metodele USDA și ISO. Din 180 de probe alimentare testate, 45 au fost testate folosind metodele FDA BAM și USDA FSIS și 90 au fost testate folosind metodele ISO. **BBL CHROMagar O157** a avut o sensibilitate de 100% și o specificitate de 100% în comparație cu metodele de referință pentru ambele probe alimentare. Nu s-au observat reacții fals negative la testarea probelor alimentare. Nu s-a observat nici o diferență statistică în recuperare folosind metoda **BBL CHROMagar O157**, comparativ cu mediile de pe plăcile de referință, bazate pe analiza Chi-square. Izolatele cunoscute, incluzând 54 de tulpini de *E. coli* O157:H7 (din care 3 tulpini fără motilitate) și 32 de tulpini non-*E. coli* O157:H7, au fost evaluate pe **BBL CHROMagar O157** cu o sensibilitate și specificitate de 100%. Rezultatele acestor studii au demonstrat că **BBL CHROMagar O157** este un mediu eficient pentru recuperarea și detectarea *E. coli* O157:H7 în carnea de vită crudă și sucul de mere nepasteurizat, folosind metodele FDA BAM, USDA FSIS și ISO. Consultați tabelul 1 pentru rezumatul rezultatelor studiului de comparare al metodelor de validare.

Tabelul 1: Rezumatul rezultatelor comparației dintre metodele de validare

Matrice de alimente	Metoda	Nivel de Inoculare	Probe Totale	Total Pozitive	Pozitive de referință	CHROMagar O157 Pozitive	Metoda de echivalare ¹	Chi-Square ³
Carne crudă de vită	USDA Vită	Crescut	20	15	12	15	85% ²	1,33
		Scăzut	20	13	10	13	85% ²	1,33
		Martor	5	0	0	0	-	-
Carne crudă de vită	ISO Vită	Crescut	20	17	16	17	95% ²	0,00
		Scăzut	20	10	9	10	95% ²	0,00
		Martor	5	0	0	0	-	-
Suc de mere nepasteurizat	ISO Suc	Crescut	20	19	19	19	100%	0,00
		Scăzut	20	14	14	14	100%	0,00
		Martor	5	0	0	0	-	-
Suc de mere nepasteurizat	FDA Suc	Crescut	20	13	13	13	100%	0,00
		Scăzut	20	10	10	10	100%	0,00
		Martor	5	0	0	0	-	-

¹ Reprezintă procentul de probe confirmate pozitive și negative, combinate, care au fost echivalente între metodele de referință și cele **BBL CHROMagar O157**.

² Probe adiționale pozitive, detectate prin metoda **BBL CHROMagar O157**: 3 probe pozitive adiționale când s-a testat carnea crudă de vită prin metoda USDA/FSIS și o probă pozitivă adițională când s-a testat carne crudă de vită prin metoda ISO.

³ Valorile Chi-square < 3,84 nu indică o diferență semnificativă la p<0,05.

Limitările procedurii

BBL CHROMagar O157 nu detectează serotipuri enterohemoragice sau enteropatogene ale *E. coli*, altele decât O157:H7, atâta timp cât ele pot fi diferite din punct de vedere biochimic. Tulpinile de *E. coli* O157:H7 β-glucuronidază-pozitive nu se pot detecta pe **BBL CHROMagar O157**; oricum, aceste tulpini sunt rare.

BBL CHROMagar O157 nu diferențiază tulpinile de *E. coli* O157:H7 ce produc toxine, de cele ce nu produc.

Alte organisme, în afară de *E. coli* O157:H7, cum ar fi *Proteus* spp. se pot dezvolta pe acest mediu; oricum, acestea în general produc o altă colorație. Dacă se observă colonii neizolate mov, izolarea poate fi efectuată prin subcultivare pe o altă placă cu **BBL CHROMagar O157**.

Tulpini rare de *E. coli* (similare din punct de vedere biochimic cu *Shigella*) pot produce rezultate fals pozitive pe **BBL CHROMagar O157**. Incubarea la temperaturi mai scăzute decât cele recomandate poate întârzia detectarea reacțiilor pozitive. Dacă temperatura de incubare este sub $35 \pm 2^\circ\text{C}$, plăcile trebuie incubate 24 de ore înainte să fie raportate ca negative. 12 Testele de confirmare sunt necesare pentru identificarea definitivă. 1-3,6 Acest mediu nu trebuie folosit pentru izolarea altor patogeni enterici, alții decât *E. coli* O157:H7.

REFERINȚE

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 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. 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. Datele din fișier, BD Diagnostic Systems.

AMBALAJ/DISPONIBILITATE

BD CHROMagar O157 Medium

Nr. cat. 254105

Medii pe plăci pregătite pentru utilizare, cpu 20

INFORMAȚII SUPLIMENTARE

Pentru informații suplimentare, contactați reprezentantul local 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 este o marcă comercială și Performance Tested Methods este o marcă de servicii a AOAC International.

ATCC este o marcă comercială a American Type Culture Collection.

CHROMagar este o marcă comercială a Dr. A. Rambach.

Difco este marcă comercială a Difco Laboratories, subsidiară a Becton, Dickinson and Company.

BD, BD Logo și BBL sunt mărci comerciale ale Becton, Dickinson and Company.

© 2006 BD.