



BD BBL CHROMagar O157

USA Patentnr 6,165,743



*See footnote below

AVSEDD ANVÄNDNING

BD CHROMagar O157 är ett selektivt medium för isoleringen, differentieringen och den sannolika identifikationen av *Escherichia coli* O157:H7 från kliniska och veterinärmedicinska källor samt från livsmedel och miljö.

BBL CHROMagar O157 har validerats av AOAC-Research Institute med hjälp av program för Performance Tested MethodsSM (analysmetoder för prestanda) vid analysen av rå köttfärs och icke-pastöriserad äppelcider med användning av FDA BAM-, USDA FSIS- och ISO-metoder.¹⁻³

PRINCIPER FÖR OCH FÖRKLARING AV METODEN

Mikrobiologisk metod.

E. coli O157:H7 är den vanligaste isolerade patogenen från avföringsprover innehållande blod.⁴⁻⁶ Dock utesluter ej frånvaron av blodiga diarréer förekomsten av *E. coli* O157:H7.⁷ Denna serotyp orsakar ett brett spektrum av sjukdomar från lindrig icke-blodig diarré till allvarlig blodig diarré (hemolytisk colit), hemolytiskt uremiskt syndrom och död.⁴⁻⁶ Isoleringen av *E. coli* O157:H7 dominerar i många områden och åldersgrupper över andra vanliga tarmpatogener, speciellt gäller detta *Shigella*. Överföring sker oftast via intag av rått eller icke väl tillagat nötkött; andra livsmedel har också nämnts.⁴⁻⁶ Dessutom kan överföring ske från person till person liksom även från vattenkällor för rekreation.⁴⁻⁶

CHROMagar O157 är avsedd för isoleringen, differentieringen och den sannolika identifikationen av *E. coli* O157:H7. På grund av de kromogena substraten i mediet ger *E. coli* O157:H7-kolonierna en lila färg och medger därför den sannolika identifikationen från den primära isoleringsplattan och differentiering från andra organismer. I prover med lågt antal av *E. coli* O157:H7, kan anrikningsmetoder före inokuleringen av mediet vara till hjälp.

CHROMagar O157 utvecklades ursprungligen av A. Rambach, CHROMagar, Paris, France. **BD** har, under ett licensavtal, optimerat denna formulering genom användandet av den ägande immaterialrätten vid tillverkningen av **BBL CHROMagar O157**-preparerat plattmedium.

Speciellt utvalda **Difco**-peptoner ger näringsämnen. Tillägget av kaliumtellurit, cefixim och cefsulodin reducerar antalet bakterier andra än *E. coli* O157:H7 som växer på detta medium. Den kromogena blandningen består av artificiella substrat (kromogener), vilka frisätter en olöslig färgad förening när de hydrolyseras av ett specifikt enzym. *E. coli* O157:H7 utnyttjar ett av de kromogena substraten för att producera lila kolonier. Växten av lila kolonier betraktas som sannolika bevis för *E. coli* O157:H7 på **BBL CHROMagar O157**. Icke-*E. coli* O157:H7-bakterier kan utnyttja andra kromogena substrat som ger blåa till blågröna färgade kolonier eller, om inga av de kromogena substraten utnyttjas, kan kolonierna uppträda med sin naturliga färg. Detta underlättar detektionen och differentieringen av *E. coli* O157:H7 från andra organismer.

*TILLHANDAHÅLLNA PROVER FRÅN TILLVERKAREN AV DENNA TESTSATSMODELL HAR OBEROENDE UTVÄRDERATS AV AOAC RESEARCH INSTITUTE OCH BEFUNNITS PRESTERA ENLIGT TILLVERKARENS SPECIFIKATIONER SOM FASTSTÄLLTS I TESTSATSENS BESKRIVANDE INSTICKSBLAD. TILLVERKAREN GARANTERAR ATT DENNA SATS ÖVERENSSTÄMMER PÅ ALLA SÄTT MED DE URSPRUNGLIGA SPECIFIKATIONER UTVÄRDERADE AV AOAC RESEARCH INSTITUTE SOM SPECIFICERATS I *Performance Tested Methods*SM MED CERTIFIKATNUMMER 090501.

REAGENSER:

BD CHROMagar O157 Medium

Ungefärlig sammansättning* per liter aqua purif.

Kromopepton	16,0 g
Natriumklorid	7,0 g
Kromogen blandning	0,65 g
Kaliumtellurit	2,5 mg
Cefixim	0,05 mg
Cefsulodin	4,0 mg
Agar	14,0 g

pH: 7,1 ± 0,2

*Justerad och/eller kompletterad efter behov för att uppfylla prestandakriterierna.

FÖRSIKTIGHETSBEAKTANDEN

IVD . Endast för professionellt bruk.

Om för mycket fukt observeras, vänd botten över ett lock och låt lufttorka för att förhindra att en försegling bildas mellan plattans över- och nederdel under inkubationen. Skydda från ljus under torkningen. Se **FÖRVARING OCH HÅLLBARHET**.

Plattorna får inte användas om de visar tecken på mikrobiell kontamination, missfärgning, uttorkning, sprickbildning eller annan försämring.

Patogena mikroorganismer, inklusive hepatitvirus och humant immunbristvirus, kan förekomma i kliniska prover. "Allmänna försiktighetsbeaktanden"⁸⁻¹¹ och institutionens riktlinjer bör följas vid hanteringen av alla föremål som kontaminerats med blod eller andra kroppsvätskor.

Patogena mikroorganismer, inkluderande *E. coli* O157, kan förekomma i livsmedelsprover. Iakttag aseptisk teknik och vedertagna infektionsförebyggande försiktighetsåtgärder under samtliga förfaranden.

Efter användning skall alla preparerade plattor, provbehållare och övrigt kontaminerat material steriliseras i autoklav innan de kasseras.

Se skriften **ALLMÄN BRUKSANVISNING** för information om aseptiska förfaranden vid hantering, biorisker och bortskaffning av använd produkt.

FÖRVARING OCH HÅLLBARHET

Förvara plattorna mörkt vid 2 till 8 °C i originalomslaget efter mottagandet fram till dess de skall användas. Överhettning och nedfrysning skall undvikas. Får ej öppnas förrän omedelbart före användning. Plattorna kan inokuleras fram till utgångsdatum (se etiketten på förpackningen) och inkuberas under rekommenderad inkubationsperiod. Låt mediet värmas till rumstemperatur före inokulation.

Plattorna från öppnade 10-plattförpackningar kan användas under en vecka om de förvaras på ett rent område vid 2 till 8 °C. **Minimera exponeringen för ljus före och under inkubation, eftersom ljus kan förstöra kromogenerna.**

KVALITETSKONTROLL UTFÖRD AV ANVÄNDAREN

Kontrollera prestanda genom inokulering av ett representativt urval av plattor med rena kulturer av stabila kontrollorganismer som ger kända, önskade reaktioner (för detaljer se dokumentet **ALLMÄN BRUKSANVISNING**). De omnämnda teststammarna i tabellen nedan rekommenderas. Inkubera aerobt under 18 till 24 h vid 35 ± 2 °C i mörker.

Stammar	Växtresultat
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 ATCC 700728 (=NCTC 12900)	Ansenlig till utmärkt växt Grålila till rosalila (= lila) kolonier
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Partiell till fullständig inhibition; blågröna kolonier; kan omringas av en blågrön halo
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	Växt: blågröna till blåa kolonier
Ej inokulerad	Färglös till ljus beige, transparent

Kvalitetskontroll måste utföras i enlighet med gällande bestämmelser eller ackrediteringskrav samt laboratoriets etablerade procedurer för kvalitetskontroll. Det rekommenderas att användaren konsulterar tillämpliga riktlinjer enligt Clinical and Laboratory Standards Institute (tidigare NCCLS) och lämpliga kvalitetskontrollförfaranden.

FÖRFARANDE

Tillhandahållet material

BD CHROMagar O157 Medium (90 mm **Stacker**-plattor). Mikrobiologiskt kontrollerade.

Material som krävs men ej medföljer: Extra odlingsmedier, reagenser, organismer för kvalitetskontroll och annan laboratorieutrustning efter behov.

Provytyper

Vid klinisk användning, se laboratorieförfarande avseende detaljer för provtagning och hantering. Detta medium används för isoleringen av *Escherichia coli* O157:H7 från avföringsprover eller pinnprover från rektum hos patienter som misstänks vara infekterade med detta agens. För analysering av agrikulturella livsmedel följ lämpliga standardmetoder avseende detaljer för provberedning och bearbetning i enlighet med provtyp och geografiskt läge. Se också **KLINISKA PRESTANDA OCH METODENS BEGRÄNSNINGAR**.

Testprocedur

lakttag aseptiska tekniker. Agarytan ska vara jämn och fuktig utan att vara överdrivet fuktig. För kliniska prover och så snart som möjligt efter mottagandet i laboratoriet, inokulera provet på en **BBL CHROMagar O157**-platta och utför stryk för isolering. Om provet skall odlas från pinne rullas pinnen över ett litet ytområde nära kanten varefter plattan stryks med en ögla från detta område. Alternativt kan plattorna inokuleras från förberikningar. Inkubera plattorna aerobt vid 35 ± 2 °C under 18-24 h, vända upp och ned (agarsidan upp). Andra media som t.ex. **BD MacConkey II Agar** kan också inokuleras för att tillhandahålla detektion av andra tarmpatogener.

För livsmedelsprover, se lämpliga referenser och följ tillämpliga standardmetoder. Inokulera inkuberad anrikad buljong eller avskiljd livsmedelspartikel på **BBL CHROMagar O157** och genomför stryk för isolering. Inkubera plattorna aerobt vid 35 ± 2 °C under 18-24 h, vända upp och ned (agarsidan upp).

Resultat

Efter lämplig inkubering avläses plattorna mot en vit bakgrund. *E. coli* O157:H7 ger upphov till lilafärgade kolonier på **BBL CHROMagar O157**-mediet. Alla lila kolonierna måste bekräftas som *E. coli* O157:H7 biokemiskt och/eller serologiskt före rapportering.^{1,2,3,6} Grampositiva organismer bör vara fullständigt inhiberade. Gramnegativa organismer, andra än *E. coli* O157:H7, kommer antingen att inhiberas eller ge färglösa, blåa, gröna, blågröna (akvafärgade) eller naturfärgade kolonier.

KLINISKA PRESTANDA OCH METODENS BEGRÄNSNINGAR

BD CHROMagar O157 är ett kromogent medium för den selektiva isoleringen och sannolika identifikationen av *E. coli* O157:H7 från kliniska och veterinärmedicinska källor samt från livsmedel och miljö.

Prestandaresultat¹²

Klinisk testning: Sammanlagt 110 frysta isolat från avföring och 16 avföringsodlingar (10 färska och 6 arkiverade) utvärderades vid ett storstadssjukhus med användning av **BBL CHROMagar O157**, Sorbitol MacConkey (SMAC) och Sorbitol MacConkey med cefixim och tellurit (SMAC-CT). De frysta avföringsisolaten bestod av 50 *E. coli* O157:H7, 15 *E. coli* icke-O157, 8 Shiga-toxinpositiva *E. coli* icke-O157 och 37 andra *Enterobacteriaceae* och icke-fermentativa gram-negativa stavar. Sju av de 16 analyserade avföringsproverna befanns vara positiva för *E. coli* O157:H7. Följande sensitiviteter och specificiteter sågs:

	Sensitivitet (nr)	Specificitet (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)

Testning av agrikulturella livsmedel

BBL CHROMagar O157 har validerats av AOAC-Research Institute med hjälp av program för Performance Tested Methods.¹² **BBL CHROMagar O157** har utvärderats för detektionen av *E. coli* O157:H7 i rå köttfärs och icke-pastöriserad äppelcider med användning av inokulationsmetoder. Återvinningen av *E. coli* O157:H7 på **BBL CHROMagar O157** jämfördes med FDA BAM-, USDA FSIS- och ISO referens-plattmedia. Den referensrekommenderade anrikningen och screeningförfarandena följdes för referensmedia och **BBL CHROMagar O157**. Immunmagnetisk separering (IMS) utfördes i enlighet med USDA- och ISO-metoderna. Av de 180 livsmedelsproverna, analyserades 45 med FDA BAM- och USDA FSIS-metoderna och 80 analyserades med ISO-metoderna. **BBL CHROMagar O157** gav en sensitivitet på 100 % och en specificitet på 100 % jämfört med referensmetoderna för båda livsmedelmatiserna. Inga falskt negativa sågs vid analysering av livsmedelmatiserna. Ingen statistisk skillnad sågs vid återvinningen med **BBL CHROMagar O157**-metoden jämfört med referensplattmedia baserat på Chi-square analys. Kända isolat, inkluderande 54 stammar med *E. coli* O157:H7 (3 av vilka var icka-rörliga stammar) och 32 icke-*E. coli* O157:H7-stammar, utvärderades på **BBL CHROMagar O157** med en sensitivitet och specificitet på 100 %. Resultaten från dessa studier visar att **BBL CHROMagar O157** är ett effektivt medium för återvinningen och detektionen av *E. coli* O157:H7 i rå köttfärs och icke-pastöriserad äppelcider med användning av FDA BAM-, USDA FSIS- och ISO-metoderna. Se tabell 1 för en sammanfattning av studieresultat från jämförande utvärderingsmetoder.

Tabell 1: Sammanfattning av resultat vid jämförande utvärderingsmetoder

Livsmedelsmatrix	Metod	Inokulationsnivå	Totalt antal prov	Totalt positiva	Positiva referenser	CHROMagar O157 Positiva	Metodöverensstämmelse ¹	Chi-Square ³
Rå köttfärs	USDA nötkött	Hög	20	15	12	15	85 % ²	1,33
		Låg	20	13	10	13	85 % ²	1,33
		kontroll	5	0	0	0	-	-
Rå köttfärs	ISO nötkött	Hög	20	17	16	17	95 % ²	0,00
		Låg	20	10	9	10	95 % ²	0,00
		kontroll	5	0	0	0	-	-
Icke-pastöriserad äppelcider	ISO-cider	Hög	20	19	19	19	100 %	0,00
		Låg	20	14	14	14	100 %	0,00
		kontroll	5	0	0	0	-	-
Icke-pastöriserad äppelcider	FDA-cider	Hög	20	13	13	13	100 %	0,00
		Låg	20	10	10	10	100 %	0,00
		kontroll	5	0	0	0	-	-

¹ Representerar procent av bekräftade positiva och negativa prover, kombinerade, vilka var likvärdiga mellan referens- och **BBL CHROMagar O157**-metoderna.

² Ytterligare positiva prover detekterade av **BBL CHROMagar O157**-metoden: 3 ytterligare positiva vid analysering av rå köttfärs med USDA/FSIS-metoderna och 1 ytterligare positiv vid analysering av rå köttfärs med ISO-metoden.

³ Värdet för Chi-square < 3,84 visar ingen signifikant skillnad vid p<0,05.

Procedurens begränsningar

BBL CHROMagar O157 detekterar ej enterohemorragiska eller enteropatogena serotyper av *E. coli* andra än O157:H7, eftersom de kan skilja sig biokemiskt. β -glucuronidas-positiva stammar av *E. coli* O157:H7 kommer ej att detekteras på **BBL CHROMagar O157**; emellertid är sådana stammar ovanliga.

BD CHROMagar O157 differentierar inte mellan toxinproducerande och icke-toxinproducerande stammar av *E. coli* O157:H7.

Organismer andra än *E. coli* O157:H7, som t.ex. *Proteus* spp. kan växa på detta medium; emellertid ger de en annan färg. Om icke-isolerade lila kolonier ses, kan isolering åstadkommas genom subkultivering till en annan **BBL CHROMagar O157**-platta. Ovanliga stammar av *E. Coli* (biokemiskt lika *Shigella*) har hittats vilka ger falskt positiva resultat på **BBL CHROMagar O157**. Inkubation vid lägre temperaturer än rekommenderat kan försena detektion av positiva reaktioner. Om inkubationstemperaturen är lägre än 35 ± 2 °C, bör plattorna inkuberas under hela 24 h innan de rapporteras som negativa.¹²

Bekräftande analyser är nödvändiga för definitiv identifikation.^{1-3,6}

Detta medium ska ej användas för isoleringen av tarmpatogener andra än *E. coli* O157:H7.

REFERENSER

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. 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.

FÖRPACKNINGAR/TILLGÄNGLIGHET

BD CHROMagar O157 Medium

Kat.nr 254105

Färdiga odlingsplattor, 20 st. per förpackning

YTTERLIGARE INFORMATION

Kontakta närmaste BD-representant för ytterligare information.



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.