



BD BBL™ CHROMagar™ Staph aureus



ÚČEL POUŽITÍ

BBL CHROMagar Staph aureus je selektivní médium pro izolaci, kvantitativní hodnocení a identifikaci bakterie *Staphylococcus aureus* z klinických a potravinových vzorků. U typických izolátů z klinických vzorků se nevyžaduje potvrzovací zkouška.

BBL CHROMagar Staph aureus (předpřipravené médium na Petriho misce) je ověřeno institutem AOAC™ Research Institute v programu Performance Tested MethodsSM Program pro analýzu na celých vejcích, uzeném lososovi a pečeném hovězím mase s použitím postupů OAC a ISO.^{1,2} U světle fialových kolonií získaných z potravinových vzorků se vyžadují potvrzovací testy.

ZÁSADY A VYSVĚTLENÍ POSTUPU

Mikrobiologická metoda.

S. aureus je dobře prostudovaný patogenní organismus. Způsobuje jak povrchové, tak systémové infekce.^{3,4} Vzhledem k rozšíření tohoto mikroorganismu a jeho klinickým dopadům je jeho detekce v maximální možné míře důležitá.

Stafylokoková otrava jídlem způsobená *S. aureus* je jedním z nejběžnějších typů otravy jídlem na světě. Jeho detekce a kvantitativní hodnocení pomáhá při zjišťování informací o potenciálním riziku otravy jídlem, a zároveň je ukazatelem nedostatečné hygieny.⁵ Taktéž se doporučuje využití tohoto mikroorganismu jako ukazatele kvality vody.⁶

BBL CHROMagar Staph aureus je určen pro izolaci, kvantitativní hodnocení a identifikaci bakterie *S. aureus*, založené na tvorbě světle fialových kolonií. Chromogenní substráty obsažené v médiu usnadňují odlišení *S. aureus* od jiných mikroorganismů.

Výhodou média **BBL CHROMagar Staph aureus** oproti běžným médiím, jako je např.

Baird-Parkerův agar, je možnost identifikace *S. aureus* do 24 hodin oproti běžné době 48 hodin.

BBL CHROMagar Staph aureus byl původně vyvinut společností A. Rambach, CHROMagar, Paříž, Francie. Společnost BD tuto technologii vylepšila na základě udělené licence s využitím patentovaného know-how při výrobě předpřipraveného média na Petriho misce **BBL**

CHROMagar Staph aureus. Výživné látky dodávají speciálně vybrané peptony **Difco**™. Přidané selektivní látky inhibují růst gramnegativních mikroorganismů, kvasinek a některých grampozitivních koků. Směs chromogenů se skládá z umělých substrátů (chromogenů), které po hydrolýze pomocí specifických enzymů uvolňují nerozpustnou zabarvenou sloučeninu. To usnadňuje zjištění a odlišení *S. aureus* od jiných organismů. *S. aureus* využívá jeden z chromogenních substrátů a tvoří světle fialově zbarvené kolonie. Růst světle fialových kolonií do 24 hodin se u média **BBL CHROMagar Staph aureus** považuje za pozitivitu na *S. aureus*. Jiné bakterie než je *S. aureus* mohou využívat jiné chromogenní substráty a tvořit modře a modrozeleně zbarvené kolonie, nebo, pokud není použit žádný chromogenní substrát, mohou mít svoji vlastní přirozenou barvu.

*NEZÁVISLÉ ZKOUŠKY VZORKŮ TESTOVACÍ SADY TOHOTO TYPU, PROVEDENÉ AOAC RESEARCH INSTITUTE (VÝZKUMNÝM ÚSTAVEM AOAC), POTVRDILY, ŽE FUNKCE TESTOVACÍ SADY ODPOVÍDÁ ÚDAJŮM, KTERÉ VÝROBCE UVÁDÍ V PŘÍLOŽENÉM POPISU. VÝROBCE STVRZUJE, ŽE TATO SADA VE VŠECH OHLEDECH SPLŇUJE PARAMETRY, KTERÉ VÝZKUMNÝ ÚSTAV AOAC HODNOTIL TAK, JAK JE UVEDENO V OSVĚDČENÍ *Performance Tested Methods*™ Č. 100503.

REAGENTY

Médium BBL CHROMagar Staph aureus

Přibližné množství* na litr deionizované vody

Chromopepton	40,0 g
Chlorid sodný	25,0 g
Směs chromogenů	0,5 g
Inhibitory	0,07 g
Agar	14,0 g

pH: 6.8 +/-0.2

*Upraveno a/nebo doplněno dle požadavků tak, aby byla splněna kritéria účinnosti.

BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

IVD . Pouze k odbornému použití. 

Zjistíte-li nadměrnou vlhkost, položte obrácenou spodní část na sejmutou horní část a nechte na vzduchu vyschnout, aby se dolní a horní části misky při inkubaci vzduchotěsně nespojily. Při sušení chraňte před světlem. Viz **SKLADOVÁNÍ A ŽIVOTNOST**.

Pokud misky vykazují známky mikrobiální kontaminace, změny zabarvení, vysušení, popraskání nebo jiné známky poškození, nepoužívejte je.

V klinických vzorcích se mohou nacházet patogenní mikroorganismy včetně virů hepatitidy a virů lidské imunodeficiency (HIV). Proto dodržujte při práci se vším, co je kontaminováno krví a jinými tělními tekutinami, standardní bezpečnostní opatření⁷⁻¹⁰ a předpisy příslušné instituce.

Při provádění všech kroků dodržujte aseptické postupy a zavedená bezpečnostní opatření zabráňující vzniku mikrobiologických rizik.

Připravené misky, nádoby se vzorky a další kontaminované materiály je nutné po použití nejprve sterilizovat v autoklávu a poté zlikvidovat.

Pokyny pro aseptickou manipulaci, informace týkající se biologického nebezpečí a pokyny pro likvidaci použitého produktu naleznete v dokumentu **VŠEOBECNÉ POKYNY K POUŽITÍ**.

SKLADOVÁNÍ A ŽIVOTNOST

Po převzetí skladujte misky až do doby těsně před použitím v originálním pouzdru, v temnu a při teplotě 2 až 8° C. Systém nesmí zmraznout nebo se přehřát. Misky lze očkovat až do data platnosti (viz štítek na obalu) a inkubovat je lze po doporučenou dobu inkubace.

Misky z otevřených sad po 10 kusech lze použít po dobu jednoho týdne, pokud jsou uloženy v čistém prostředí při teplotě 2 až 8° C.

KONTROLA JAKOSTI UŽIVATELEM

Zkontrolujte účinnost inokulací reprezentativního vzorku misek čistými kulturami stabilních kontrolních mikroorganismů, které vykazují známé požadované reakce (detailní informace naleznete v dokumentu **VŠEOBECNÉ POKYNY K POUŽITÍ**). Jako testované kmeny jsou doporučeny kmeny z níže uvedené tabulky. Inkubujte aerobně po dobu 18 až 24 hodin při teplotě 35 ± 2° C v temném prostředí.

Kmeny	Výsledky růstu
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	růst; světle fialové kolonie
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> ATCC 15305	růst; modré až modrozelené kolonie
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	inhibice (částečná až úplná)
Slepý vzorek	bezbarvé až světle oranžové, čisté až lehce zakalené

Požadavky na kontrolu jakosti musí být splněny v souladu s platnými místními, státními a federálními zákony nebo požadavky na akreditaci a se standardními postupy kontroly jakosti vaší laboratoře.

Doporučujeme, aby si uživatel prostudoval informace o správném provádění kontroly kvality v příslušných směrnících amerického úřadu pro klinické a laboratorní normy CLSI (dříve NCCLS).

POSTUP

Dodaný materiál:

BBL CHROMagar Staph aureus, dodané na 90mm miskách Stacker.

Potřebný materiál, který není součástí balení: podle potřeby pomocná kultivační média, činidla, organismy pro kontrolu jakosti a další laboratorní vybavení.

Typy vzorků

Detailní informace o postupech při odběru a manipulaci se vzorky naleznete v příslušných textech nebo normách. Toto médium se používá k izolaci bakterie *Staphylococcus aureus* ze všech druhů klinických vzorků. Viz také VÝKONOVÉ CHARAKTERISTIKY A OMEZENÍ POSTUPU.

Při testování zemědělských produktů dodržujte příslušné standardní metody pro přípravu vzorku a zpracování podle typu vzorku a geografického umístění.

Provedení testu

Dodržujte aseptické postupy. Povrch agarů by měl být hladký a vlhký, ale bez nadměrné vlhkosti. U klinických vzorků inokulujte co nejdříve po převzetí vzorku v laboratoři vzorek na misku s médiem **BBL CHROMagar Staph aureus** a proveďte nátěr k izolaci. Je-li vzorek kultivován přímo z výtěru, otřete výtěr jemně o malou plochu povrchu na okraji a poté proveďte rozočkování z tohoto místa pomocí smyčky. Obrácené misky (stranou s agarem nahoru) inkubujte v aerobních podmínkách 20–24 h při teplotě 35 ± 2 °C.

U potravinových vzorků se podívejte na příslušné odkazy a dodržujte použitelné standardní metody. Homogenizované vzorky potravin inokulujte na médium **BBL CHROMagar Staph aureus** technikou rozetření na misku. Obrácené misky (stranou s agarem nahoru) inkubujte v aerobních podmínkách 20–28 h při teplotě 35 až 37°C.

Výsledky

Po správné inkubaci vyhodnoťte misky proti bílému podkladu. *S. aureus* na médiu **BBL CHROMagar Staph aureus** vytváří světle fialové až oranžovofialové kolonie. Většina gram pozitivních organismů (nejsou-li inhibovány) vytváří modré, modrozelené, bezbarvé, bílé nebo krémové kolonie. Gramnegativní organismy a kvasinky jsou částečně nebo úplně inhibovány.

SPECIFICKÉ VLASTNOSTI ÚČINNOSTI A OMEZENÍ POSTUPU

Výsledky účinnosti¹²

Klinické měření

1. Během studie provedené ve velké metropolitní nemocnici bylo na médiu **BBL CHROMagar Staph aureus** vyhodnoceno 201 výtěrů z krku a vzorků sputa od pacientů s cystickou fibrózou a 459 vzorků z nosní sliznice od jiných pacientů nemocnice. Médium **BBL CHROMagar Staph aureus** bylo porovnáno s krevním agarem nebo solno-manitolovým agarem. Ověření izolátu bylo provedeno koagulázou na podložním sklíčku. *S. aureus* byl zjištěn u 190 kombinovaných vzorků. Médium **BBL CHROMagar Staph aureus** detekovalo 9 dalších kultur pozitivních na *S. aureus*, které nebyly zjištěny na standardních médiích. Po 24 hodinách inkubace byly také na médiu **BBL CHROMagar Staph aureus** určeny čtyři potenciální falešně pozitivní výsledky: 2 korynebakterie a 2 koaguláza-negativní stafylokoky. Celková hodnota citlivosti média **BBL CHROMagar Staph aureus** činila 99,5 % a hodnota specifity pak 99,2 %.¹¹

2. V jedné evropské studii bylo 165 vzorků z běžné laboratoře (100 vzorků se známým obsahem *S. aureus* zjištěným standardními metodami a 65 známých negativních vzorků) inokulováno na médium **BBL CHROMagar Staph aureus**, solno-manitolový agar a agar Columbia Agar s 5 % ovčí krve. Typy vzorků uvádí tabulka 1. Misky byly inkubovány po dobu 20 až 24 hod při teplotě 35 až 37°C a testovány na kolonie s podezřením na přítomnost *S. aureus*. U všech vzorků s podezřením byly provedeny zkumavkové testy na koagulázu na všech třech médiích. Rovněž byl stanoven rozsah množení *S. aureus* (hodnocen semikvantitativně).

Tabulka 1: Typy vzorků

Typy vzorků	Vzorky se známou pozitivitou na <i>S. aureus</i>	Vzorky se známou negativitou na <i>S. aureus</i>
Abscesy	14	6
Ascites	1	0
Kosti	1	0
Burza	1	0
Katétr	4	0
Drenáž	1	0
Píštěl	0	1
Chirurgické vzorky	12	15
Různé tampóny	12	19
Flegmóna	1	0
Tracheální sekrece	1	0
Rány	52	24
Celkem	100	65

Výsledky: Z celkového množství 165 vzorků byl ve 100 vzorcích prokázán růst *S. aureus* na libovolném médiu, což bylo potvrzeno testy na koaguláza-pozitivitu/negativitu na všech médiích.

Na médiu **BBL CHROMagar Staph aureus** bylo 100 vzorků s potlačeným růstem *S. aureus*; na solno-manitolovém agaru 91 vzorků s potlačeným růstem *S. aureus*; na agaru Columbia Agar spolu s testováním na koaguláza-pozitivitu/negativitu 98 vzorků pozitivních na *S. aureus*. U média **BBL CHROMagar Staph aureus** byl jeden falešně pozitivní výsledek, který byl identifikován jako *Streptococcus agalactiae*. Po opětovné inokulaci kmene na médium **BBL CHROMagar Staph aureus** byly kolonie spíše fialové než růžové až světle fialové.

Mezi známými negativními vzorky bylo 5 kultur s fialovými nebo bledě fialovými koloniemi, které se barevně shodovaly s koloniemi *S. aureus*. Přesto je však mohl i laboratorní pracovník, který nemá dostatek zkušeností s barvami kolonií různých druhů rostoucích na médiu, snadno rozlišit od kolonií kmene *S. aureus* (= růžové až světle fialové). Laboratornímu pracovníkovi byl před zahájením studie poskytnut pouze souhrn barev a organismů vyskytujících se na médiu.

Citlivost média **BBL CHROMagar Staph aureus** (podle růžové až světle fialové barvy kolonií), solno-manitolového agaru (podle kolonií obklopených médiem žluté barvy) a agaru Columbia Agar (růst typických kolonií kmene *S. aureus* spolu s testy na koaguláza-pozitivitu/negativitu) byly následující: 100 %, 91 % a 98 %. Specifita média **BBL CHROMagar Staph aureus** byla 98,5 %.

Na médiu **BBL CHROMagar Staph aureus** byla intenzita růstu mnohem častěji vyšší než na solno-manitolovém agaru ($p = 0,05$); viz tabulku 2.

Médium **BBL CHROMagar Staph aureus** lze použít pro širokou škálu vzorků.

Tabulka 2: Intenzita růstu izolátů kmene *S. aureus* na médiu CSA* v porovnání s médiem MSA*

	Intenzita růstu					
	CSA = Col	CSA > Col	Col > CSA	CSA = MSA	CSA > MSA	MSA > CSA
Počet vzorků	74	12	14	74	18**	8

* CSA, **BBL CHROMagar Staph aureus**; MSA, solno-manitolový agar; Col, agar Columbia Agar s 5 % ovčí krve

** statisticky významná odchylka ($p = 0,05$)

Testování zemědělských produktů

Médium **BBL CHROMagar Staph aureus** ověřil institut AOAC Research Institute v programu Performance Tested Methods. Médium vyhodnotila jak externí referenční laboratoř, tak i společnost BD na výtěžnost a kvantitativní hodnocení přítomnosti *S. aureus* v pečeném hovězím mase, uzeném lososovi a celých vejcích. Výtěžnost a kvantitativní hodnocení *S. aureus* na médiu **BBL CHROMagar Staph aureus** byly porovnány s Baird-Parkerovým agarem a referenčními médii na miskách AOAC a ISO s použitím doporučených ředění při nízkých, středních a vysokých hladinách inokula *S. aureus*. Po 24h

inkubaci bylo provedeno kvantitativní hodnocení na médiu **BBL CHROMagar Staph aureus** a po 48h inkubaci na Baird-Parkerově agaru. Pomocí statistické analýzy nebyl zjištěn signifikantní rozdíl mezi referenčními médii a médiem **BBL CHROMagar Staph aureus** u žádného druhu potravin nebo hladiny kontaminace s výjimkou vzorku z uzeného lososa s nízkou hladinou. Vzorek s nízkou hladinou z uzeného lososa vykazoval statistický rozdíl v interním testu pomocí metody ISO; tj. z média BBL CHROMagar Staph aureus bylo po 24 hodinách získáno více kolonií ($\log_{10} = 2,04$) než z referenčního média ISO po 48h inkubaci ($\log_{10} = 1,64$). Odhady přesnosti opakovatelnosti testu s médiem **BBL CHROMagar Staph aureus** byly uspokojivé. Korelační koeficienty rozmezí 92,6 až 99,4 % ukazují dobrou korelaci pro všechny hladiny kontaminace u všech druhů potravin. Přehled dat uvádí tabulka 1 a 2. Pomocí média **BBL CHROMagar Staph aureus** nebyly u vzorků potravin zjištěny žádné falešně pozitivní kolonie. Všechny světle fialové kolonie bez výjimky byly potvrzeny jako *S. aureus*. Dále bylo ověřeno 30 kmenů *S. aureus*, včetně kmenů se známou produkcí enterotoxinu, a 37 izolátů bez *S. aureus* a měření ukázalo senzitivitu a specifitu média **BBL CHROMagar Staph aureus** rovnou 100 %.¹¹

Tabulka 1. Souhrn dat externího testování AOAC a ISO u pečeného hovězího masa a celých vajec¹⁻³

		AOAC		
	Hladina inokula	Párový t-test nebo jednocestný test ANOVA ^a	Opakovatelnost (standardní odchylka) ^b	Lineární nebo kvadratický korelační koeficient
Pečené hovězí maso	Nízká	Nevýznamný	0,398	96,0%
	Střední	Nevýznamný	0,04	
	Vysoká	Nevýznamný	0,062	
Celá vejce	Nízká	Nevýznamný	0,302	95,5%
	Střední	Nevýznamný	0,089	
	Vysoká	Nevýznamný	0,143	
		ISO		
	Hladina inokula	Párový t-test nebo jednocestný test ANOVA ^a	Opakovatelnost (standardní odchylka) ^b	Lineární nebo kvadratický korelační koeficient ^c
Pečené hovězí maso	Nízká	Nevýznamný	0,315	94,6%
	Střední	Nevýznamný	0,045	
	Vysoká	Nevýznamný	0,117	
Celá vejce	Nízká	Nevýznamný	0,341	92,6%
	Střední	Nevýznamný	0,223	
	Vysoká	Nevýznamný	0,135	

Poznámky viz tabulka 2.

Tabulka 2. Souhrn dat externího a interního testování AOAC a ISO u uzeného lososa

	Hladina inokula	Párový t-test nebo jednocestný test ANOVA ^a		Opakovatelnost (standardní odchylka) ^b		Lineární nebo kvadratický korelační koeficient ^c	
Uzený losos (AOAC)	Nízká	Nevýznamný	Nevýznamný	0,132	0,271	99,4%	93,2%
	Střední	Nevýznamný	Nevýznamný	0,055	0,095		
	Vysoká	Nevýznamný	Nevýznamný	0,064	0,161		
Uzený losos (ISO)	Nízká	Nevýznamný	Významný ^d	0,158	0,227	98,7%	97,4%
	Střední	Nevýznamný	Nevýznamný	0,135	0,165		
	Vysoká	Nevýznamný	Nevýznamný	0,116	0,033		

a Párový t-test a jednocestná analýza ANOVA použité ke zhodnocení srovnatelné účinnosti média **BBL CHROMagar Staph aureus** vzhledem k referenčnímu médiu porovnáním střední hodnoty $\log_{10}$ počtu kolonií.

b Opakovatelnost ukazuje, že médium **BBL CHROMagar Staph aureus** vykazuje srovnatelné výsledky mezi jednotlivými měřeními s použitím stejného materiálu a metody.

c Lineární nebo kvadratický korelační koeficient se používá pro ověření přesnosti kvantitativních metod při jiných počtech kolonií *S. aureus*.

d Médium **BBL CHROMagar Staph aureus** mělo větší výtěžnost kolonií než standardní referenční metoda ISO.

Omezení postupu

Některé kmeny stafylokoků (jiné než *S. aureus*) jako jsou *S. cohnii*, *S. intermedius* a *S. schleiferi*, stejně jako korynebakterie a kvasinky, mohou po 24 hodinách vytvářet světle fialové kolonie.¹¹ Odlišení *S. aureus* od jiných kmenů (non-*S. aureus*) lze provést testem na koagulázu, jinými

biochemickými testy nebo Gramovým barvením. Rezistentní gramnegativní bacily, které obvykle vytvářejí malé modré kolonie, mohou také infikovat.

Nedoporučujeme provádět inkubaci déle než 24 h (klinické vzorky) a 28 h (potravin), jelikož to může způsobit větší množství potenciálních falešně pozitivních výsledků. Při překročení doby inkubace musíte ověřit světle fialové kolonie před vlastním nahlášením positivity na *S. aureus*. Inkubace kratší než doporučených 20 hodin může mít za následek nižší procento správných výsledků.

Některé kmeny *S. aureus* mají přirozený zlatý pigment. Jejich kolonie proto mohou mít barvu přecházející z oranžové do světle fialové.

ODKAZY

1. AOAC Official Method 9755.55. *Staphylococcus aureus* in foods. Surface plating method for isolation and enumeration. 1976.
2. International Organization for Standards (ISO). Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive Staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) - Part 1: Technique using Baird Parker agar medium, 1st ed., ISO 6888-1:1999.
3. Jablonski, L.M. and G.A. Bohach. 1997. *Staphylococcus aureus*. In M. Doyle, L. Beuchat and T. Montville (eds.), Food microbiology fundamentals and frontiers. ASM, Washington, DC.
4. Bannerman, T.L. 2003. *Staphylococcus*, *Micrococcus*, and other catalase-positive cocci that grow aerobically. In P.R. Murray, E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Tenover (eds.), Manual of clinical microbiology, 8th edition. ASM, Washington DC.
5. Bennett, R.W. and G.A. Lancefield. 1998. *Staphylococcus aureus*. In FDA, Bacteriological analytical manual, 8th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.
6. Toranzos, G.A., G.A. McFeters and J.J. Borrego. 2002. Detection of microorganisms in environmental freshwaters and drinking waters. In C. Hurst, R. Crawford, G. Knudsen, M. McInerney and L. Stetzenbach (eds.), Manual of environmental microbiology, 2nd ed. ASM Press, Washington, DC.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, formerly NCCLS). Approved Guideline M29. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Search for latest version at www.clsi.org
8. 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.
9. 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, DC.
10. 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.
11. Archivní data, společnost BD Diagnostic Systems.

BALENÍ/DOSTUPNOST

REF 257074	Médium na misce určené k okamžitému použití, 20 kusů v balení
REF 257099	Médium na misce určené k okamžitému použití, 120 kusů v balení

DALŠÍ INFORMACE

Další informace získáte u místního zástupce společnosti BD.



Becton Dickinson GmbH

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

<http://www.bd.com>

<http://www.bd.com/europe/regulatory/>

AOAC is a trademark and Performance Tested Methods is a service mark of AOAC International.
CHROMagar is a trademark of Dr. A. Rambach.
Difco is a trademark of Difco Laboratories, Inc., subsidiary of Becton, Dickinson and Company.
ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection
BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2011 BD