



BD BBL™ CHROMagar™ Staph aureus



UTILIZARE SPECIFICĂ

BBL CHROMagar Staph aureus este un mediu selectiv pentru izolarea, numărarea și identificarea *Staphylococcus aureus* din surse clinice și alimentare. Nu sunt necesare testări pentru confirmarea izolatelor tipice din surse clinice.

BBL CHROMagar Staph aureus (mediu pe placă preparat) a fost validat de AOAC Research Institute în cadrul programului Performance Tested MethodsSM pentru analiza ouălelor, somonului afumat și a fripturii de vită utilizând metodele AOAC și ISO.^{1,2} Sunt necesare teste pentru confirmare a coloniilor de culoare mov obținute din tipurile alimentare menționate mai sus.

PRINCIPIILE ȘI EXPLICAREA PROCEDURII

Metodă microbiologică.

S. aureus este un agent patogen bine cunoscut. Infecțiile de care se face responsabil variază de la superficiale la sistemice.^{3,4} Datorită prevalenței și implicațiilor clinice ale acestui organism, detectarea sa este foarte importantă.

Intoxicația alimentară stafilococică determinată de *S. aureus* este una din cele mai comune forme de îmbolnăvire de cauză alimentară din lume. Detectarea și numărarea sa ajută la furnizarea de informații asupra potențialului risc al alimentelor pentru sănătate, în același timp fiind un indicator al igienei precare.⁵ Este recomandat, de asemenea, ca acest organism să fie utilizat ca un indicator al calității apei.⁶

BBL CHROMagar Staph aureus este destinat izolării, numărării și identificării *S. aureus* bazându-se pe formarea coloniilor de culoare mov. Adăugarea la mediu a substraturilor cromogene facilitează diferențierea *S. aureus* de alte organisme.

Capacitatea de a identifica *S. aureus* în 24 h în loc de 48 h este un avantaj pe care **BBL CHROMagar Staph aureus** îl are asupra unor medii tradiționale, cum ar fi agarul Baird-Parker.

BBL CHROMagar Staph aureus a fost inițial realizat de A. Rambach, CHROMagar, Paris, Franța. În cadrul unui acord de licență, BD a optimizat această formulă utilizând drepturile de proprietate intelectuală la fabricarea mediului preparat și transpus în plăci **BBL CHROMagar Staph aureus**. Peptone **Difco** special selectate furnizează substanțele nutritive. Adăugarea unor agenți selectivi inhibă creșterea organismelor gram-negative, a levurilor și a unor coci gram pozitivi. Amestecul cromogen constă din substraturi artificiale (cromogeni), ce eliberează, când sunt hidrolizate de enzime specifice, un compus colorat insolubil. Aceasta facilitează detectarea și diferențierea *S. aureus* de alte organisme. *S. aureus* utilizează unul din substraturile cromogene, producând colonii de culoare mov. Creșterea coloniilor de culoare mov pe **BBL CHROMagar Staph aureus** la 24 h, este considerată reacție pozitivă pentru *S. aureus*. Alte bacterii în afară de *S. aureus* pot utiliza alte substraturi cromogene determinând formarea de colonii de culoare albastră, albastru-verzui sau colonii colorate natural dacă nu sunt utilizate substraturi cromogene.

*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 MethodsSM NUMĂRUL 100503.

REACTIVI

BBL CHROMagar Staph aureus

Formula* aproximativă pentru un L de apă purificată

Cromopeptonă	40,0 g
Clorură de sodiu	25,0 g
Amestec cromogen	0,5 g
Agenti inhibitori	0,07 g
Agar	14,0 g

pH: 6,8 +/- 0,2

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

PRECAUȚII

IVD . Numai pentru uz profesional. ⓧ

În cazul în care se constată umezeală excesivă, răsturnați cutia cu capacul deschis și lăsați să se usuce la aer pentru a preveni formarea în cursul incubației a unei membrane între partea inferioară și cea superioară a plăcii. Feriți de lumină în cursul uscării. Consultați **DEPOZITARE 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 hepatice și virusul imunodeficienței umane. La manevrarea tuturor elementelor contaminate cu sânge și alte lichide biologice trebuie respectate Precauțiile standard⁷⁻¹⁰ și regulamentul instituției.

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. Plăcile pot fi inoculate până la expirarea termenului de valabilitate (consultați eticheta ambalajului) și pot fi incubate pentru perioadele recomandate de incubare.

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.

CONTROLUL CALITĂȚII EFECTUAT DE UTILIZATOR

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

Tulpini	Rezultatele creșterii
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Creștere; colonii mov
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> ATCC 15305	Creștere; colonii verzi spre albastru-verzui
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Inhibare (parțială spre completă)
Neinoculat	Incolor spre culoarea chihlimbarului deschis, clar spre tulbure

Cerințele controlului de calitate trebuie efectuate 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 din clinică să apeleze la ghidurile adecvate ale Clinical and Laboratory Standards Institute (Institutul pentru standardele de laborator și clinice) (fost NCCLS) pentru tehnici adecvate ale controlului calității.

PROCEDURĂ

Materiale furnizate

BBL CHROMagar Staph aureus, furnizat în vase **Stacker** de 90 mm

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

Tipuri de probe

Pentru detalii referitoare la procedurile de colectare și manipulare a eșantioanelor/probelor, consultați instrucțiunile sau standardele corespunzătoare. Acest mediu este utilizat pentru izolarea *Staphylococcus aureus* din toate tipurile de probe clinice. Consultați, de asemenea, **CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ ȘI LIMITĂRILE PROCEDURII**.

Pentru testarea produselor agroalimentare, respectați metodele standard adecvate pentru detalii asupra preparării și prelucrării probei corespunzătoare tipului și localizării geografice a probei.

Procedură de testare

Respectați tehnicile de asepsie. Suprafața agarului trebuie să fie omogenă și umedă, dar nu excesiv de umedă. Cât mai repede posibil, după recepția în laborator, inoculați proba clinică pe o placă **BBL CHROMagar Staph aureus** și însămânțați în vederea izolării. Dacă proba este cultivată dintr-un tampon, rotiți cu blândețe tamponul pe o arie mică la marginea suprafeței, apoi însămânțați din această arie cu o ansă. Incubați plăcile în condiții de aerobioză la $35 \pm 2^\circ\text{C}$ pentru 20–24 h într-o poziție inversată (partea cu agar în sus).

Pentru probele alimentare, consultați referințele corespunzătoare și respectați metodele standard aplicabile. Inoculați probele alimentare omogenizate pe **BBL CHROMagar Staph aureus** utilizând tehnica de dispersare pe placă. Incubați plăcile în condiții de aerobioză la $35\text{--}37^\circ\text{C}$ pentru 20–28 h într-o poziție inversată (partea cu agar în sus).

Rezultate

După o incubație corespunzătoare, citiți plăcile pe un fundal alb. *S. aureus* va produce pe mediul **BBL CHROMagar** colonii de culoare mov spre portocaliu/mov. Dacă nu sunt inhibitate, cele mai multe organisme gram pozitive vor produce colonii de culoare albastră, albastru-verzui sau de culoare naturală (incolore, albe sau crem). Organismele gram negative și levurile sunt inhibitate parțial spre complet.

CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ ȘI LIMITĂRILE PROCEDURII

Rezultate de performanță¹²

Testarea clinică

1. Într-un studiu pe teren efectuat de un mare spital metropolitan din S.U.A., au fost evaluate pe **BBL CHROMagar Staph aureus** 201 de probe faringiene și de spută de la pacienți cu fibroză chistică și 459 de probe nazale de la pacienții altor spitale. **BBL CHROMagar Staph aureus** a fost comparat cu agar sânge sau agar cu sare de manitol, cu confirmarea izolatelor prin testul coagulazei. *S. aureus* a fost recuperat din 190 de probe combinate. **BBL CHROMagar Staph aureus** a detectat 9 culturi pozitive suplimentare de *S. aureus* ce nu au fost recuperate pe mediile convenționale. Patru rezultate posibil fals pozitive au fost, de asemenea, observate pe mediul **BBL CHROMagar Staph aureus** după o incubație de 24 h: două corinebacterii și doi stafilococi coagulazo-negativi. **BBL CHROMagar Staph aureus** a determinat o sensibilitate generală de 99,5% și o specificitate de 99,2%.¹¹

2. Într-un studiu european, o sută șaiszeci și cinci (165) de probe dintr-un laborator pentru testare de rutină, constând din 100 de probe în care s-a descoperit *S. aureus* prin metode standard (= probe cunoscute ca pozitive) și 65 de probe cunoscute ca negative, au fost dispersate pe **CHROMagar Staph aureus**, agar cu sare de manitol și agar cu 5% sânge de oaie Columbia. Tipurile de probe sunt afișate în tabelul 1. Plăcile au fost incubate 20 până la 24 de ore la 35 până la 37°C și au fost citite pentru colonii suspecte de *S. aureus*. Au fost efectuate teste ale coagulazei în flacon pentru toate coloniile

suspecte de pe toate cele trei medii. De asemenea, a fost determinat gradul creșterii coloniilor de *S. aureus* (apreciată semi-cantitativ).

Tabelul 1: Tipuri de probe

Tipuri de probe	Probe cunoscute ca pozitive pentru <i>S. aureus</i>	Probe cunoscute ca negative pentru <i>S. aureus</i>
Abcese	14	6
Lichid de ascită	1	0
Os	1	0
Bursă	1	0
Cateter	4	0
Drenaj	1	0
Fistulă	0	1
Probe chirurgicale	12	15
Tampoane diverse	12	19
Flegmoane	1	0
Secreții traheale	1	0
Plăgi	52	24
Total	100	65

Rezultate: Din 165 de probe, 100 au prezentat creștere de *S. aureus* pe orice mediu, confirmată de testul coagulazei din toate mediile.

100 de probe au determinat creșterea *S. aureus* pe **CHROMagar Staph aureus**; 91 au determinat creșterea *S. aureus* pe agar cu sare de manitol; iar 98 de probe au fost pozitive pentru *S. aureus* pe agar Columbia împreună cu testul coagulazei. A fost semnalat un rezultat fals pozitiv pe **CHROMagar Staph aureus** care a rezultat a fi *Streptococcus agalactiae*. După reînsămânțarea tulpinii pe **CHROMagar Staph aureus**, coloniile au fost de culoare violet mai degrabă decât trandafirii spre mov.

Printre probele cunoscute ca negative, 5 culturi au prezentat colonii violet sau liliachii, colonii similare din punct de vedere al culorii cu *S. aureus*. Cu toate acestea, au putut fi ușor diferențiate de coloniile produse de *S. aureus* (=trandafirii spre mov), de către un cititor nefamiliarizat cu culorile coloniilor diferitelor specii ce cresc pe mediu (înainte de începerea studiului i-a fost prezentat numai un rezumat al culorilor și organismelor ce pot fi întâlnite pe mediu).

Sensibilitățile mediilor **CHROMagar Staph aureus** (bazată pe culoarea coloniilor trandafirii spre mov), agarului cu sare de manitol (bazată pe colonii înconjurate de mediu galben) și agar Columbia (creșterea coloniilor tipice de *S. aureus* împreună cu testul coagulazei) au fost de 100%, 91% și respectiv de 98%. Specificitatea **CHROMagar Staph aureus** a fost de 98,5%.

Intensitatea creșterii pe **CHROMagar Staph aureus** a fost frecvent mai mare decât pe MSA ($p=0,05$); consultați tabelul 2.

CHROMagar Staph aureus poate fi utilizat pentru o largă varietate de probe.

Tabelul 2: Intensitatea creșterii izolatelor de *S. aureus* pe CSA* comparată cu cea pe MSA*

	Growth intensityIntensitatea creșterii					
	CSA = Col	CSA>Col	Col>CSA	CSA=MSA	CSA>MSA	MSA>CSA
Numărul de probe	74	12	14	74	18**	8

* CSA, **CHROMagar Staph aureus**; MSA, agar cu sare de manitol; Col, agar Columbia cu 5% sânge de oaie

** diferență statistic semnificativă ($p=0,05$)

Testarea produselor agroalimentare

BBL CHROMagar Staph aureus a fost validat de AOAC Research Institute în cadrul programului Performance Tested Methods. Mediul a fost evaluat pentru recuperarea și numărarea *S. aureus* din friptura de vită, din somonul afumat și din ouă, de un laborator

extern de referință, cât și intern în cadrul BD. Recuperarea și numărarea *S. aureus* pe **BBL CHROMagar Staph aureus** a fost comparată cu mediul de referință pe placă AOAC și ISO, cu agarul Baird-Parker, utilizând solvenții recomandați la nivele de inoculare cu

S. aureus reduse, medii și ridicate. Numărarea a fost realizată după 24 h de incubare pe **BBL CHROMagar Staph aureus** și după 48 h pe agarul Baird-Parker. Pe baza unei analize statistice, nu au fost găsite diferențe semnificative între metodele de referință și metoda **BBL CHROMagar Staph aureus** pentru nici un fel de alimente sau nivel de contaminare, cu excepția unei probe de somon afumat cu nivel redus de contaminare. Nivelul redus de contaminare al somonului afumat a evidențiat o diferență statistică în testarea internă utilizând metoda ISO; adică, metoda **BBL CHROMagar Staph aureus** a recuperat la 24 h mai multe colonii ($\log_{10} = 2,04$) decât metoda de referință ISO la 48 h ($\log_{10} = 1,64$). Estimările preciziei repetabilității metodei **BBL CHROMagar Staph aureus** au fost satisfăcătoare. Coeficienții de corelație au variat între 92,6% și 99,4%, evidențiind o bună corelare pentru toate nivelurile de contaminare ale tuturor tipurilor de alimente.

Data is summarized in Tables 1 and 2. No false-positive colonies were recovered from the food matrices using **BBL CHROMagar Staph aureus**. Datele sunt centralizate în tabelele 1 și 2. Nu au fost recuperate colonii fals pozitive din tipurile alimentare utilizând **BBL CHROMagar Staph aureus**. Toate coloniile mov au fost confirmate, fără discrepante, ca *S. aureus*. Au fost evaluate 30 de tulpini suplimentare de *S. aureus*, incluzând tulpini cunoscute ca producătoare de enterotoxine și 37 de izolate non-*S. aureus* rezultând la ambele grupuri o sensibilitate și o specificitate de 100% pe **BBL CHROMagar Staph aureus**.¹¹

Tabelul 1. Rezumatul testărilor externe AOAC și ISO pentru friptura de vită și ouă ¹⁻³

AOAC				
	Nivelul de inoculare	Testul-t pereche sau One-way ANOVA ^a	Repetabilitatea (deviația standard) ^b	Pătratul coeficientului liniar de corelare
Friptură de vită	Redus	Nesemnificativ	0,398	96,0%
	Mediu	Nesemnificativ	0,04	
	Ridicat	Nesemnificativ	0,062	
Ouă	Redus	Nesemnificativ	0,302	95,5%
	Mediu	Nesemnificativ	0,089	
	Ridicat	Nesemnificativ	0,143	
ISO				
	Nivelul de inoculare	Testul-t pereche sau One-way ANOVA ^a	Repetabilitatea (deviația standard) ^b	Pătratul coeficientului liniar de corelare
Friptură de vită	Redus	Nesemnificativ	0,315	94,6%
	Mediu	Nesemnificativ	0,045	
	Ridicat	Nesemnificativ	0,117	
Ouă	Redus	Nesemnificativ	0,341	92,6%
	Mediu	Nesemnificativ	0,223	
	Ridicat	Nesemnificativ	0,135	

Note de subsol - consultați tabelul 2

Tabelul 2. Rezumatul testărilor externe AOAC și ISO și interne pentru somonul afumat

	Nivelul de inoculare	Testul-t pereche sau One-way ANOVA ^a		Repetabilitatea (deviația standard) ^b		Pătratul coeficientului liniar de corelare	
AOAC somon afumat	Redus	Nesemnificativ	Nesemnificativ	0,132	0,271	99,4%	93,2%
	Mediu	Nesemnificativ	Nesemnificativ	0,055	0,095		
	Ridicat	Nesemnificativ	Nesemnificativ	0,064	0,161		
	Redus	Nesemnificativ	Semnificativ ^d	0,158	0,227		

ISO somon afumat	Mediu	Nesemnificati v	Nesemnifica tiv	0,135	0,165	98,7%	97,4%
	Ridicat	Nesemnificati v	Nesemnifica tiv	0,116	0,033		

a Testul-t pereche și o analiză one-way ANOVA au fost utilizate pentru a evalua performanțele comparate ale **BBL CHROMagar Staph aureus** versus mediul de referință prin compararea mediei $\log_{10}$ a numărărilor coloniilor.

b Repetabilitatea demonstrează că **BBL CHROMagar Staph aureus** determină rezultate comparabile între testele realizate pe același material și cu aceeași metodă.

c Pătratul coeficientului de corelație liniară este utilizat pentru evaluarea preciziei metodelor cantitative la diferitele numărări ale *S. aureus*.

d **BBL CHROMagar Staph aureus** a recuperat mai multe colonii decât metoda de referință ISO.

Limitările procedurii

Ocazional, unele tulpini de stafilococi, altele decât *S. aureus*, cum ar fi: *S. cohnii*, *S. intermedius* și *S. schleiferi*, cât și corinebacterii și levuri, pot produce la 24 h colonii de culoare mov.¹¹

Diferențierea *S. aureus* de non-*S. aureus* poate fi realizată prin testul coagulazei, alte teste biochimice sau colorația gram. Pot, de asemenea, să apară bacilii gram-negativi rezistenți, care formează tipic colonii mici de culoare albastră.

Nu este recomandată incubarea peste 24 h (probe clinice) și 28 h (probe alimentare) datorită creșterii posibilităților de reacții fals pozitive. Dacă timpul de incubare este depășit, coloniile de culoare mov trebuie confirmate înainte de a fi raportate ca *S. aureus*.

Incubarea cu o durată mai scurtă de cea recomandată de 20 h poate determina un procentaj mai scăzut al rezultatelor corecte obținute.

Culoarea coloniilor poate apare portocaliu-mov, datorită pigmentului auriu natural al unor tulpini de *S. aureus*.

REFERINȚE

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. Data on file, BD Diagnostic Systems.

AMBALAJ/DISPONIBILITATE

Nr. cat. 257074: Medii pe plăci pregătite pentru utilizare, 20 cpu
Nr. cat. 257099: Medii pe plăci pregătite pentru utilizare, 120 cpu

INFORMAȚII SUPLIMENTARE

Pentru informații suplimentare, contactați reprezentantul local 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 is a service mark of AOAC International.

CHROMagar is a trademark of Dr. A. Rambach.

Difco is a trademark of Difco Laboratories, 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