



BD BBL™ CHROMagar™ Staph aureus



AVSEDD ANVÄNDNING

BBL CHROMagar Staph aureus är ett selektivt medium för isolering, räkning och identifikation av *Staphylococcus aureus* i kliniska källor och i livsmedel. Bekräftande testning av typiska isolat från kliniska källor krävs ej.

BBL CHROMagar Staph aureus (preparerat plattmedium) har validerats av AOAC™ Research Institute med hjälp av Performance Tested MethodsSM-programmet (analysmetoder för prestanda) för analys av äggskal, rökt lax och tillagad rostbiff med AOAC- och ISO-metoder.^{1,2} Bekräftande testning av ljuslila kolonier från ovannämnda livsmedelsmatriser krävs.

PRINCIPER FÖR OCH FÖRKLARING AV METODEN

Mikrobiologisk metod.

S. aureus är en väldokumenterad patogen. Den orsakar allt från ytliga till systemiska infektioner.^{3,4} På grund av organismens prevalens och dess kliniska implikationer är detektion av största vikt.

Matförgiftning orsakad av *S. aureus* är en av de vanligaste livsmedelsburna sjukdomarna i världen. Upptäckt och räkning ger oss värdefull information om potentiella hälsorisker hos livsmedel och indikerar även bristfällig hygien.⁵ Organismen rekommenderas även som indikator för vattenkvalitet.⁶

BBL CHROMagar Staph aureus är avsett för isolering, räkning och identifikation av *S. aureus* utifrån bildandet av ljuslila kolonier. Tillägget av kromogena substrat i mediet underlättar differentieringen av *S. aureus* från andra organismer.

En fördel med **BBL CHROMagar Staph aureus** framför vissa traditionella media, som Baird-Parker Agar, är möjligheten att identifiera *S. aureus* på 24 h, jämfört med 48 h.

BBL CHROMagar Staph aureus utvecklades ursprungligen av A. Rambach, CHROMagar i Paris. BD har, under ett licensavtal, utvecklat denna formulering genom användandet av immateriell egendom som används vid tillverkningen **BBL CHROMagar Staph aureus** preparerat plattmedium. Speciellt utvalda **Difco™**-peptoner utgör näringskälla. Tillägget av selektiva agenter inhiberar växten av gramnegativa organismer, jäst och vissa grampositiva kocker. Blandningen av kromogener består av artificiella substrat (kromogener) som vid hydrolys av specifika enzymer frisätter en olöslig, färgad förening. Detta underlättar detektion och differentiering av *S. aureus* från andra organismer. *S. aureus* använder ett av de kromogena substraten för att producera ljuslila kolonier. Växten av ljuslila kolonier inom 24 h anses positivt för *S. aureus* på **BBL CHROMagar Staph aureus**. Andra bakterier än *S. aureus* kan använda andra kromogena substrat för att producera blå, blågröna och, om inga kromogena substrat används, naturfärgade kolonier.

*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 SOM UTVÄRDERATS AV AOAC RESEARCH INSTITUTE SOM SPECIFICERATS I *Performance Tested MethodsSM* MED CERTIFIKATNUMMER 100503.

REAGENSER:

BBL CHROMagar Staph aureus

Ungefärlig sammansättning* per liter aqua purif.

Kromopepton	40,0 g
Natriumklorid	25,0 g
Kromogen blandning	0,5 g
Inhibitoriska agens	0,07 g
Agar	14,0 g

pH: 6.8 +/- 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 försiktighetsbeaktanden⁷⁻¹⁰ och institutionens riktlinjer bör följas vid hantering av alla föremål som kontaminerats med blod eller andra kroppsvätskor.

Använd 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. Plattorna kan inokuleras fram till utgångsdatum (se etiketten på förpackningen) och inkuberas under rekommenderad inkubationsperiod.

Plattor från öppnade 10-plattförpackningar kan användas i en vecka vid förvaring i ren miljö vid 2 till 8°C.

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>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Växt; ljuslila kolonier
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> ATCC 15305	Växt; gröna till blågröna kolonier
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Inhibition (partiell till fullständig)
Ej inokulerad	Färglös till ljus gulaktig, transparent till svagt suddig

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

Tillhandahållt material

BBL CHROMagar Staph aureus, tillhandahålls i 90 mm **Stacker**-plattor

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

Provtyper

Se tillämpliga texter och standarder för information om rutiner för provtagning och -hantering. Detta medium används för isolering av *Staphylococcus aureus* från alla typer av kliniska prover. Se också **KLINISKA PRESTANDA OCH METODENS BEGRÄNSNINGAR**. För analysering av agrikulturella livsmedel följ lämpliga standardmetoder avseende detaljer för provberedning och bearbetning i enlighet med provtyp och geografiskt läge.

Testprocedur

Använd aseptisk teknik. Agarytan ska vara jämn och fuktig utan att vara överdrivet fuktig. Kliniska prover ska så snart som möjligt efter mottagandet i laboratoriet inokuleras på en **BBL CHROMagar Staph aureus**-platta och stryk göras 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. Inkubera plattorna aerobt vid 35 ± 2 °C under 20-24 h, vända upp och ned (agarsidan upp).

För livsmedelsprover, se lämpliga referenser och följ tillämpliga standardmetoder. Inokulera homogeniserade livsmedelsprover på **BBL CHROMagar Staph aureus** med utspridningsteknik. Inkubera plattorna aerobt, vända upp och ned med agarsidan upp, vid 35 till 37 °C under 20 till 28 h.

Resultat

Efter korrekt inkubation ska plattorna avläsas mot en vit bakgrund. *S. aureus* kommer att bilda ljuslila till orange/ljuslila kolonier på **BBL CHROMagar Staph aureus**-mediet. De flesta grampositiva organismer producerar, i den mån de inte inhiberas, blå, blågröna eller naturfärgade (färglösa, vita eller beige) kolonier. Gramnegativa organismer och jästsvampar inhiberas helt eller delvis.

KLINISKA PRESTANDA OCH METODENS BEGRÄNSNINGAR

Prestandaresultat¹²

Klinisk testning:

1. I en fältstudie utförd vid ett stort storstadssjukhus i USA utvärderades 201 hals- och sputumprover från patienter med cystisk fibros samt 459 nasalprover från andra patienter på sjukhuset, på mediet **BBL CHROMagar Staph aureus**. **BBL CHROMagar Staph aureus** jämfördes med blodagar eller mannitol-salt-agar, med bekräftelse av isolaten via koagulastest på objektglas. *S. aureus* återfanns i 190 kombinerade prover. På **BBL CHROMagar Staph aureus** detekterades ytterligare 9 *S. aureus*-positiva kulturer, vilka missades på de konventionella medierna. Fyra potentiellt falskt positiva kulturer observerades också på **BBL CHROMagar Staph aureus**-mediet efter 24 timmars inkubering: två corynebakterier och två koagulasnegativa stafylokocker. Sensitiviteten totalt för **BBL CHROMagar Staph aureus** var 99,5 % och specificiteten 99,2 %.¹¹
2. I en europeisk studie ströks etthundrasextiofem (165) prov från ett rutinlab på **BBL CHROMagar Staph aureus**, Mannitol Salt-agar och Columbia-agar med 5 % fårblod. Av dessa var 100 prover känt positiva och 65 känt negativa. Provtyper visas i tabell 1. Proverna inkuberades under 20 till 24 timmar vid 35 till 37 °C och avlästes avseende kolonier av misstänkt *S. aureus*. Rör för koagulastest sattes upp för alla misstänkta kolonier från alla tre media. Mängden av *S. aureus*-växt (räknat semikvantitativt) bestämdes också.

Tabell 1: Provtyper

Provtyper	Känt <i>S. Aureus</i> -positiva prover	Känt <i>S. Aureus</i> -negativa prover
Abscesser	14	6
Ascites	1	0
Ben	1	0
Bursa	1	0
Kateter	4	0

Dränage	1	0
Fistel	0	1
Operationsprov	12	15
Blandade provtagningspinnar	12	19
Flegmone	1	0
Trakealsekret	1	0
Sår	52	24
Totalt	100	65

Resultat: Av de 165 proverna, gav 100 växt av *S. aureus* på vilket medium som helst, vilket bekräftades med koagulastest från alla media.

På **BBL CHROMagar Staph aureus** gav 100 prover växt av *S. aureus*; på Mannitol salt-agar gav 91 växt av *S. aureus*; på Columbia-agar med koagulastest var 98 prover positiva för *S. aureus*. Det fanns en falskt positiv på **BBL CHROMagar Staph aureus** som visade sig vara *Streptococcus agalactiae*. Vid upprepade strykningar av stammen på **BBL CHROMagar Staph aureus**, var kolonierna lila istället för rosa till ljuslila. Av de kända negativa proven hade 5 kulturer violetta eller lila kolonier som liknade *S. aureus* i färgen. De kunde dock lätt differentieras från *S. aureus*-kolonier (=rosa till ljuslila) av den som läste av resultaten och som ej hade så stor erfarenhet av kolonifärger från olika species som förekom på mediet (endast en sammanfattning av färger och organismer som förekom på mediet hade delats ut till henne innan studien började). Sensitiviteterna hos **BBL CHROMagar Staph aureus** (baserat på rosa till ljuslila kolonier), Mannitol Salt-agar (baserat på kolonier omgivna av gult medium) och Columbia-agar (växt av typiska *S. aureus*-kolonier tillsammans med koagulastestning) var 100 %, 91 % och 98 %. Specificiteten hos **BBL CHROMagar Staph aureus** var 98,5 %.

På **BBL CHROMagar Staph aureus** var växtintensiteten signifikant oftare högre än på MSA ($p=0,05$); se tabell 2.

BBL CHROMagar Staph aureus kan användas för en stor mängd prover.

Tabell 2: Växtintensitet av *S. aureus*-isolat på CSA* jämfört med MSA*

	Växtintensitet					
	CSA = Col	CSA > Col	Col>CSA	CSA=MSA	CSA>MSA	MSA>CSA
Antal prover	74	12	14	74	18**	8

* CSA, **BBL CHROMagar Staph aureus**; MSA, Mannitol salt-agar; Col, Columbia-agar med 5% fårblod

** statistiskt signifikant skillnad ($p=0,05$)

Testning av agrikulturella livsmedel

BBL CHROMagar Staph aureus har utvärderats av AOAC Research Institute med hjälp av Performance Tested Method-programmet. Mediet utvärderades av ett externt referenslaboratorium, förutom internt av BD, med avseende på detektion och räkning av *S. aureus* i tillagad rostbiff, rökt lax och äggskal. Detektion och räkning av *S. aureus* på **BBL CHROMagar Staph aureus** jämfördes med AOAC:s och ISO:s referensplattmedium, Baird-Parker-agar, med rekommenderade spädningsmedel och med låga, medelhöga och höga inokulationsnivåer av *S. aureus*. Efter 24 timmars inkubation utfördes räkning på **BBL CHROMagar Staph aureus** och efter 48 timmar på Baird-Parker Agar. Statistisk analys kunde inte visa signifikant skillnad mellan referensmetoderna och **BBL CHROMagar Staph aureus** för något livsmedel eller för någon kontaminationsnivå, med undantag för rökt lax på låg nivå. Den låga kontaminationsnivå för rökt lax uppvisade en statistisk skillnad vid intern testning med ISO-metoden; dvs. **BBL CHROMagar Staph aureus**-metoden detekterade fler kolonier vid 24 h ($\log_{10} = 2,04$) än ISO-referensen vid 48 h ($\log_{10} = 1,64$). Beräkningar av repeterbarhetsprecisionen för **BBL CHROMagar Staph aureus**-metoden var tillfredsställande. Korrelationskoefficienten var mellan 92,6 % och 99,4 %, med god korrelation för alla kontaminationsnivåer i alla slags livsmedel. Data sammanfattas i tabellerna 1 och 2. Inga falskt positiva kolonier rapporterades från livsmedelsmatriserna

som använde **BBL CHROMagar Staph aureus**. Alla ljuslila kolonier bekräftades vara *S. aureus* utan diskrepanser. Därutöver utvärderades 30 stammar av *S. aureus*, däribland kända enterotoxin-producerande stammar, och 37 icke-*S. aureus*-isolat, vilket gav både sensitivitet och specificitet på 100 % för **BBL CHROMagar Staph aureus**.¹¹

Tabell 1. Sammanfattning av extern AOAC- och ISO-testning av tillagad rostbiff och äggskal¹⁻³

		AOAC		
	Inokulationsnivå	Parad t-test eller One-way ANOVA ^a	Repeterbarhet (standardavvikelse) ^b	Roten av linjär korrelationskoefficient
Tillagad rostbiff	Låg	Ej signifikant	0,398	96,0 %
	Medium	Ej signifikant	0,04	
	Hög	Ej signifikant	0,062	
Äggskal	Låg	Ej signifikant	0,302	95,5 %
	Medelhög	Ej signifikant	0,089	
	Hög	Ej signifikant	0,143	
		ISO		
	Inokulationsnivå	Parad t-test eller One-way ANOVA ^a	Repeterbarhet (standardavvikelse) ^b	Roten av linjär korrelationskoefficient ^c
Tillagad rostbiff	Låg	Ej signifikant	0,315	94,6 %
	Medelhög	Ej signifikant	0,045	
	Hög	Ej signifikant	0,117	
Äggskal	Låg	Ej signifikant	0,341	92,6 %
	Medelhög	Ej signifikant	0,223	
	Hög	Ej signifikant	0,135	

Fotnoter, se Tabell 2

Tabell 2. Sammanfattning av extern AOAC- och ISO-testning och intern testning av rökt lax

	Inokulationsnivå	Parad t-test eller One-way ANOVA ^a		Repeterbarhet (standardavvikelse) ^b		Roten av linjär korrelationskoefficient ^c	
AOAC Rökt lax	Låg	Ej signifikant	Ej signifikant	0,132	0,271	99,4 %	93,2 %
	Medelhög	Ej signifikant	Ej signifikant	0,055	0,095		
	Hög	Ej signifikant	Ej signifikant	0,064	0,161		
ISO Rökt lax	Låg	Ej signifikant	Signifikant ^d	0,158	0,227	98,7 %	97,4 %
	Medelhög	Ej signifikant	Ej signifikant	0,135	0,165		
	Hög	Ej signifikant	Ej signifikant	0,116	0,033		

a Parad t-test och One-way ANOVA-analys används för att utvärdera jämförbara prestanda för **BBL CHROMagar Staph aureus** jämfört med referensmediet genom att jämföra medelvärdet av log₁₀ i koloniräkningarna.

b Repeterbarhet visar att **BBL CHROMagar Staph aureus** ger jämförbara resultat vid tester på samma material och med samma metod.

c Roten av linjär korrelationskoefficient används för att utvärdera precisionen i kvantitativa metoder i olika *S. aureus*-räkningar.

d **BBL CHROMagar Staph aureus** detekterade fler kolonier än ISO-referensmetoden.

Procedurens begränsningar

Ibland kan enstaka stammar stafylokocker, andra än *S. aureus*, såsom: *S. cohnii*, *S. intermedius* och *S. schleiferi*, liksom corynebakterier och jästsvampar, ge upphov till ljuslilafärgade kolonier efter 24 h. Differentiering av *S. aureus* från icke-*S. aureus* kan åstadkommas med hjälp av koagulas, andra biokemiska ämnen eller Gramfärgning. Resistenta gramnegativa bakterier, som vanligen uppträder i form av små blå kolonier, kan också bryta igenom.

Inkubering längre än 24 h (kliniskt) and 28 h (livsmedel) rekommenderas ej, då risken för falskt positiva svar ökar. Om inkuberingstiden överskrids, bör ljuslila kolonier bekräftas innan *S. aureus* rapporteras.

Inkubering under kortare tid än de rekommenderade 20 h kan resultera i en lägre procentuell andel korrekta resultat.

På grund av det naturliga gyllene pigmentet hos vissa *S. aureus*-stammar kan kolonierna uppfattas som orange-ljuslila.

REFERENSER

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. Toranzo, 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 på fil, BD Diagnostic Systems.

FÖRPACKNINGAR/TILLGÄNGLIGHET

REF 257074	Färdiga odlingsplattor, 20 st. per förpackning
REF 257099	Färdiga odlingsplattor, 120 st. per förpackning

YTTERLIGARE INFORMATION

Kontakta närmaste BD-representant för ytterligare information.



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