



BD BBL™ CHROMagar™ Staph aureus



USO PREVISTO

BBL CHROMagar Staph aureus es un medio selectivo para el aislamiento, la cuantificación y la identificación de *Staphylococcus aureus* en muestras clínicas y alimentos. No se requieren pruebas de confirmación de aislados típicos de muestras clínicas.

BBL CHROMagar Staph aureus (medio preparado en placa) ha sido validado por el AOAC™ Research Institute en el marco del programa Performance Tested MethodsSM para el análisis de huevos con cáscara, salmón ahumado y rosbif asado utilizando métodos de AOAC e ISO^{1,2}. Es necesario realizar pruebas de confirmación de las colonias de color malva obtenidas de las matrices de alimentos antes mencionadas.

PRINCIPIOS Y EXPLICACIÓN DEL PROCEDIMIENTO

Método microbiológico.

S. aureus es un patógeno bien documentado. Es responsable de infecciones tanto superficiales como sistémicas^{3,4}. Debido a la prevalencia de este organismo y sus implicaciones clínicas, su detección es de suma importancia.

La intoxicación alimentaria provocada por *S. aureus* es una de las enfermedades de origen alimentario más comunes en todo el mundo. Su detección y cuantificación proporcionan información acerca del posible peligro de los alimentos para la salud y son además un indicador de una higiene deficiente⁵. También se recomienda utilizar este organismo como indicador de la calidad del agua⁶.

BBL CHROMagar Staph aureus está diseñado para el aislamiento, la cuantificación y la identificación de *S. aureus* basándose en la formación de colonias de color malva. La adición de sustratos cromógenos al medio facilita la diferenciación de las especies de *S. aureus* de otros organismos.

Una ventaja de **BBL CHROMagar Staph aureus** respecto a los medios tradicionales, como el agar de Baird-Parker, es su capacidad de identificar *S. aureus* en 24 horas, en lugar de en 48 horas.

El **BBL CHROMagar Staph aureus** fue desarrollado originalmente por A. Rambach, CHROMagar, París, Francia. BD, bajo un contrato de licencia, ha optimizado esta formulación utilizando propiedad intelectual patentada para la fabricación del medio preparado en placa **BBL CHROMagar Staph aureus**. Peptonas **Difco™** especialmente seleccionadas suministran los nutrientes. La adición de agentes selectivos inhibe el crecimiento de organismos gramnegativos, levaduras y algunos cocos grampositivos. La mezcla cromógena está formada por sustratos artificiales (cromógenos), que liberan compuestos de colores insolubles cuando son hidrolizados por enzimas específicas. Esto se facilita la detección de *S. aureus* y su diferenciación con otros organismos. *S. aureus* utiliza uno de los sustratos cromógenos que producen colonias de color malva. El crecimiento de colonias de color malva a las 24 horas se considera positivo para *S. aureus* en el **BBL CHROMagar Staph aureus**. Otras bacterias diferentes de *S. aureus* pueden utilizar otros sustratos cromógenos que dan lugar a colonias de color azul o verde azulado o, si no utiliza ningún sustrato cromógeno, pueden aparecer con su color natural.

*EL AOAC RESEARCH INSTITUTE EVALUÓ DE FORMA INDEPENDIENTE MUESTRAS DE ESTE MODELO DE KIT DE ANÁLISIS SUMINISTRADAS POR EL FABRICANTE Y HALLÓ QUE CUMPLÍAN LAS ESPECIFICACIONES DEL FABRICANTE INDICADAS EN EL PROSPECTO DESCRIPTIVO DEL KIT DE ANÁLISIS. EL FABRICANTE CERTIFICA QUE ESTE KIT SE AJUSTA EN TODOS LOS SENTIDOS A LAS ESPECIFICACIONES ORIGINALMENTE EVALUADAS POR EL AOAC RESEARCH INSTITUTE INDICADAS EN EL CERTIFICADO DE *Performance Tested Methods*SM NÚMERO 100503.

REACTIVOS

BBL CHROMagar Staph aureus

Fórmula aproximada* por litro de agua purificada

Cromopeptona	40,0 g
Cloruro sódico	25,0 g
Mezcla cromógena	0,5 g
Agentes inhibidores	0,07 g
Agar	14,0 g

pH: 6.8 +/- 0.2

*Ajustada y/o complementada en la medida necesaria para cumplir los criterios de rendimiento.

PRECAUCIONES

IVD . Solamente para uso profesional. 

Si se observa humedad excesiva, invertir la parte inferior sobre una tapa desplazada y permitir secar al aire para evitar la estanqueidad entre las partes superior e inferior de la placa durante la incubación. Proteger de la luz durante el secado. Véase **ALMACENAMIENTO Y VIDA ÚTIL**. No utilizar las placas si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación, grietas o cualquier otro signo de deterioro.

En las muestras clínicas puede haber microorganismos patógenos, como los virus de la hepatitis y el virus de la inmunodeficiencia humana. Para la manipulación de todos los elementos contaminados con sangre u otros líquidos corporales, deben seguirse las Precauciones estándar⁷⁻¹⁰ y las directivas del centro.

Emplear una técnica aséptica y seguir las precauciones habituales contra riesgos microbiológicos durante todos los procedimientos.

Después de su uso, las placas preparadas, los recipientes de muestras y otros materiales contaminados deben esterilizarse en autoclave antes de ser desechados.

Consultar los procedimientos de manipulación aséptica, riesgos biológicos y desecho del producto usado en el documento **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO**.

ALMACENAMIENTO Y VIDA UTIL

Al recibir las placas, almacenarlas en un lugar oscuro a una temperatura entre 2 y 8 °C, envueltas en su envase original, hasta justo antes de usarlas. Evitar la congelación y el calentamiento excesivo. Las placas pueden inocularse hasta su fecha de caducidad (ver la etiqueta en el paquete) e incubarse durante los períodos de incubación recomendados. Las placas de grupos de 10 placas ya abiertos pueden usarse durante una semana siempre que se almacenen en un lugar limpio a una temperatura entre 2 y 8 °C.

CONTROL DE CALIDAD DEL USUARIO

Evaluar el rendimiento mediante la inoculación de una muestra representativa de placas con cultivos puros de organismos de control estables que produzcan reacciones esperadas y conocidas (para obtener los detalles, véase el documento **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO**). **Se recomiendan las cepas de prueba mencionadas en la tabla siguiente. Incubar durante 18-24 h en atmósfera aerobia a 35 ± 2 °C en lugar oscuro.**

Cepas	Resultados del crecimiento
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Crecimiento; colonias malva
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> ATCC 15305	Crecimiento; colonias de color azul verdoso a verde
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Inhibición (parcial a completa)
Sin inocular	De incoloro a ámbar claro, transparente o trazas lechosas

El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda que el usuario clínico consulte las instrucciones pertinentes del Clinical and Laboratory Standards Institute (antes NCCLS) para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados

BBL CHROMagar Staph aureus, suministrado en placas **Stacker** de 90 mm.

Materiales necesarios pero no suministrados: Medios de cultivo auxiliar, reactivos, microorganismos para control de calidad y otro equipo de laboratorio que se requiera.

Tipos de muestras

Consultar los textos o estándares correspondientes para obtener detalles acerca de los procedimientos de recogida y manipulación de las muestras. Este medio se utiliza para el aislamiento de *Staphylococcus aureus* en todos los tipos de muestras clínicas. Véase también

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO.

Para análisis agroalimentario, siga los detalles sobre preparación y procesamiento de muestras de los métodos estándar apropiados para el tipo de muestra y la ubicación geográfica.

Procedimiento de análisis

Emplear técnicas asépticas. La superficie del agar debe estar lisa y húmeda, pero sin humedad en exceso. En el caso de una muestra clínica, tan pronto como sea posible después de su recepción en el laboratorio, inocularla en una placa **BBL CHROMagar Staph aureus** y extenderla para su aislamiento. Si la muestra se cultiva de una torunda, hacerla girar sobre una zona pequeña de la superficie cercana al borde, para luego extenderla a partir de dicha zona con un asa. Incubar las placas en condiciones aerobias a 35 ± 2 °C durante 20-24 h en posición invertida (con el lado del agar hacia arriba).

En el caso de una muestra de alimento, consultar las referencias oportunas y seguir los métodos estándar correspondientes. Inocular las muestras de alimentos homogeneizadas en **BBL CHROMagar Staph aureus** utilizando la técnica de extensión en placa. Incubar las placas en condiciones aerobias a 35-37 °C durante 20-28 h en posición invertida (con el lado del agar hacia arriba).

Resultados

Después de una incubación adecuada, efectuar la lectura de las placas contra un fondo blanco. *S. aureus* produce colonias de color malva a naranja/malva en el medio **BBL CHROMagar**. La mayoría de los organismos grampositivos, si no están inhibidos, producirán colonias de color azul, azul verdoso o del color natural (incolores, blancas o color crema). Los organismos gramnegativos y levaduras se encuentran inhibidos parcial o completamente.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Resultados de rendimiento¹²

Análisis clínico

1. En un estudio práctico realizado en un hospital metropolitano grande, se evaluaron 201 muestras faríngeas y de esputo extraídas de pacientes con fibrosis cística y 459 muestras nasales de otros pacientes del hospital en **BBL CHROMagar Staph aureus**. Se comparó **BBL CHROMagar Staph aureus** con el agar sangre y agar sal manitol, con confirmación de aislados mediante prueba de coagulasa en portaobjetos. Se recuperó *S. aureus* de 190 muestras combinadas. **BBL CHROMagar Staph aureus** detectó 9 cultivos adicionales positivos a *S. aureus*, que no fueron recuperados por los medios convencionales. Se observaron 4 resultados positivos falsos potenciales en el medio **BBL CHROMagar Staph aureus** después de una incubación de 24 h: dos corinebacterias y dos estafilococos negativos a la coagulasa. La sensibilidad general de **BBL CHROMagar Staph aureus** fue del 99,5% y la especificidad, del 99,2%¹¹.
2. En un estudio europeo, se extendieron ciento sesenta y cinco (165) muestras normales de laboratorio, consistentes en 100 muestras que según los métodos estándar contenían *S. aureus* (= muestras positivas conocidas) y 65 muestras negativas conocidas, sobre **BBL CHROMagar Staph aureus**, agar sal manitol y agar Columbia con sangre de carnero al 5%. Los tipos de muestras se indican en la Tabla 1. Las muestras fueron incubadas durante 20-24 horas a 35-37 °C y se efectuó su lectura para

determinar la presencia de colonias presuntivas de *S. aureus*. Se realizaron pruebas de coagulasa en tubo para todas las colonias presuntivas en los tres medios. Además, se determinó la cantidad de crecimiento de *S. aureus* (estimada de forma semicuantitativa).

Tabla 1: Tipos de muestras

Tipos de muestras	Muestras positivas conocidas de <i>S. aureus</i>	Muestras negativas conocidas de <i>S. aureus</i>
Abscesos	14	6
Líquido ascítico	1	0
Hueso	1	0
Bolsa	1	0
Catéter	4	0
Drenaje	1	0
Fístula	0	1
Muestras quirúrgicas	12	15
Torundas varias	12	19
Flemones	1	0
Secreciones traqueales	1	0
Heridas	52	24
Total	100	65

Resultados: De las 165 muestras, 100 presentaron crecimiento de *S. aureus* en alguno de los medios, como se confirmó mediante las pruebas de coagulasa de todos los medios.

En **BBL CHROMagar Staph aureus**, 100 muestras presentaron crecimiento de *S. aureus*; en agar sal manitol, 91 presentaron *S. aureus*; en agar Columbia junto con la prueba de coagulasa, 98 muestras fueron positivas para *S. aureus*. Hubo un falso positivo en **BBL CHROMagar Staph aureus** que resultó ser *Streptococcus agalactiae*. Tras una nueva extensión de la cepa en **BBL CHROMagar Staph aureus**, las colonias eran de color violeta en lugar de rosadas a malva.

Entre las muestras negativas conocidas, había 5 cultivos con colonias de color violeta o lila parecidas al color de *S. aureus*. No obstante, podían ser diferenciadas fácilmente de las colonias de *S. aureus* (=rosadas a malva) por una lectora no muy acostumbrado a los colores de las colonias de las diferentes especies cultivadas en el medio (sólo se le había proporcionado un resumen de los colores y los organismos que aparecían en el medio antes del comienzo del estudio).

La sensibilidad del **BBL CHROMagar Staph aureus** (con base en un color de las colonias rosado a malva), del agar sal manitol (con base en un color amarillo medio) y del agar Columbia (crecimiento de colonias típicas de *S. aureus* junto con prueba de coagulasa) fue del 100%, 91% y 98%, respectivamente. La especificidad del **BBL CHROMagar Staph aureus** fue del 98,5%.

Sobre **BBL CHROMagar Staph aureus**, la intensidad del crecimiento fue más frecuentemente mayor, de forma significativa, que sobre el MSA ($p = 0,05$); véase la Tabla 2.

El **BBL CHROMagar Staph. aureus** puede utilizarse para una amplia diversidad de muestras.

Tabla 2: Intensidad de crecimiento de los aislados de *S. aureus* en CSA* en comparación con el MSA*

	Intensidad de crecimiento					
	CSA = Col	CSA > Col	Col > CSA	CSA = MSA	CSA > MSA	MSA > CSA
Número de muestras	74	12	14	74	18**	8

* CSA, **BBL CHROMagar Staph. aureus**; MSA, agar sal manitol; Col, agar Columbia con sangre de carnero al 5%.

** diferencia estadísticamente significativa ($p = 0,05$).

Análisis agroalimentario

BBL CHROMagar Staph aureus ha sido validado por el AOAC Research Institute en el marco del programa Performance Tested Methods. El medio fue evaluado tanto externamente por un laboratorio de referencia como internamente por BD, para la recuperación y la enumeración del *S. aureus* en rosbif asado, salmón ahumado y huevos con cáscara. Se comparó la recuperación y enumeración de *S. aureus* en **BBL CHROMagar Staph aureus** con el medio en placa de referencia para AOAC e ISO, agar Baird-Parker, utilizando los diluyentes recomendados a niveles bajo, medio y alto de *S. aureus*. Después de incubar durante 24 h, se realizó la enumeración de **BBL CHROMagar Staph aureus** y después de 48 h del agar Baird-Parker. Basándose en análisis estadísticos, no se observó una diferencia significativa entre los métodos de referencia y **BBL CHROMagar Staph aureus** para cualquier tipo de alimento o nivel de contaminación, con la excepción de una muestra de salmón que tenía un nivel bajo. La muestra de salmón ahumado que tenía un nivel de contaminación bajo presentó una diferencia estadística en las pruebas internas utilizando el método ISO; es decir, el método **BBL CHROMagar Staph aureus** a las 24 h recuperó más colonias ($\log_{10} = 2,04$) que la referencia ISO a las 48 h ($\log_{10} = 1,64$). Las estimaciones de precisión de la repetibilidad del método **BBL CHROMagar Staph aureus** fueron satisfactorias. Los coeficientes de correlación fueron del 92,6-99,4%, lo que demuestra una buena correlación de todos los niveles de contaminación en todos los tipos de alimentos. Los resultados se resumen en las Tablas 1 y 2. No se recuperaron colonias positivas falsas de matrices que utilizaron **BBL CHROMagar Staph aureus**. Se confirmó que todas las colonias malva eran *S. aureus* sin ninguna discrepancia. Además, se evaluaron 30 cepas de *S. aureus*, incluidas cepas productoras de enterotoxinas conocidas, y 37 cepas aisladas diferentes de *S. aureus*. En ambos casos la especificidad y la sensibilidad con **BBL CHROMagar Staph aureus**¹¹ fue del 100%.

Tabla 1. Resumen de las pruebas externas según AOAC e ISO realizadas en rosbif asado y huevos con cáscara¹⁻³

		AOAC		
	Nivel de inóculo	Prueba t para datos emparejados o ANOVA de un factor ^a	Repetibilidad (desviación estándar) ^b	Coefficiente de correlación lineal cuadrático
Rosbif asado	Bajo	No significativo	0,398	96,0%
	Medio	No significativo	0,04	
	Alto	No significativo	0,062	
Huevos con cáscara	Bajo	Not significant	0,302	95,5%
	Medio	No significativo	0,089	
	Alto	No significativo	0,143	
		ISO		
	Nivel de inóculo	Prueba t para datos emparejados o ANOVA de un factor ^a	Repetibilidad (desviación estándar) ^b	Coefficiente de correlación lineal cuadrático
Rosbif asado	Bajo	No significativo	0,315	94,6%
	Medio	No significativo	0,045	
	Alto	No significativo	0,117	
Huevos con cáscara	Bajo	No significativo	0,341	92,6%
	Medio	No significativo	0,223	
	Alto	No significativo	0,135	

Pies de página, véase la Tabla 2

Tabla 2. Resumen de las pruebas internas y externas según AOAC e ISO del salmón ahumado

	Nivel de inóculo	Prueba t para datos emparejados o ANOVA de un factor ^a		Repetibilidad (desviación estándar) ^b		Coeficiente de correlación lineal cuadrático	
		No significativo	No significativo				
Salmón ahumado según AOAC	Bajo	No significativo	No significativo	0,132	0,271	99,4%	93,2%
	Medio	No significativo	No significativo	0,055	0,095		
	Alto	No significativo	No significativo	0,064	0,161		
Salmón ahumado según ISO	Bajo	No significativo	Significativo ^d	0,158	0,227	98,7%	97,4%
	Medio	No significativo	No significativo	0,135	0,165		
	Alto	No significativo	No significativo	0,116	0,033		

a Se utilizaron la Prueba t para datos emparejados y ANOVA de un factor para evaluar el rendimiento de **BBL CHROMagar Staph aureus** y el del medio de referencia. Para ello, se comparó la media del log₁₀ del recuento de colonias.

b La repetibilidad demuestra que **BBL CHROMagar Staph aureus** produce resultados comparables en análisis que utilizan el mismo material y método.

c El coeficiente de correlación lineal cuadrático se utiliza para evaluar la precisión de los métodos cuantitativos en distintos recuentos de *S. aureus*.

d **BBL CHROMagar Staph aureus** recuperó más colonias que el método de referencia ISO.

Limitaciones del procedimiento

Ocasionalmente, ciertas cepas de estafilococos distintos de *S. aureus* como *S. cohnii*, *S. intermedius* y *S. schleiferi*, además de corinebacterias y levaduras, pueden producir colonias de color malva a las 24 h¹¹. La diferenciación de *S. aureus* de los organismos diferentes de *S. aureus* puede lograrse mediante la prueba de coagulasa, otras pruebas bioquímicas o tinción de Gram. Los bacilos gramnegativos resistentes, que generalmente aparecen como colonias pequeñas de color azul, también pueden aflorar.

No se recomienda la incubación de más de 24 h (muestras clínicas) y 28 h (alimentos) debido a un incremento en la proporción de positivos falsos potenciales. Si se supera el tiempo de incubación, debería confirmarse la existencia de colonias de color malva antes de notificar la presencia de *S. aureus*.

La incubación de menos de las 20 h recomendadas puede producir un menor porcentaje de resultados correctos.

Debido al pigmento natural dorado de algunas cepas de *S. aureus*, es posible que el color de las colonias sea de naranja a malva.

REFERENCIAS

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. Datos disponibles en los archivos de BD Diagnostic Systems.

ENVASE/DISPONIBILIDAD

REF 257074	Medios en placa listos para usar, 20 placas
REF 257099	Medios en placa listos para usar, 120 placas

INFORMACIÓN ADICIONAL

Para obtener más información, diríjase a su representante local de 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