8801671
2003/07

Middlebrook 7H10//7H10 Agar
Middlebrook 7H11//7H11 Selective Agar
Middlebrook 7H10//7H11 Selective Agar

Consulte o glossário de símbolos no fim do folheto informativo.

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

Estes meios são utilizados em procedimentos qualitativos para isolamento e cultura de micobactérias, especialmente *Mycobacterium tuberculosis*, a partir de amostras clínicas e não clínicas.

As placas com dois sectores **I Plate** de Middlebrook 7H10//7H10 Agar contêm um meio dividido em dois sectores, para permitir a inoculação de duas amostras.

As placas duplas de Middlebrook 7H11//7H11 Selective Agar fornecem dois meios, um moderadamente selectivo e um altamente selectivo, para isolamento de micobactérias em amostras com flora mista. O Middlebrook 7H11 Agar situa-se no sector identificado com o número "I" romano, moldado no fundo do sector. O 7H11 Selective Agar situa-se no sector marcado com "II".

As placas duplas de Middlebrook 7H10//7H11 Selective Agar fornecem dois meios, um moderadamente selectivo e um altamente selectivo. O Middlebrook 7H10 Agar situa-se no sector marcado com o número "I" romano, moldado no fundo do sector. O 7H11 Selective Agar situa-se no sector marcado com "II".

RESUMO E EXPLICAÇÃO

O Middlebrook 7H10 Agar baseia-se numa formulação melhorada do ágar de ácido oleico-albumina, desenvolvido por Middlebrook e Cohn para promover o crescimento precoce de bacilos da tuberculose *in vitro* e facilitar uma aplicação mais alargada dos teste de sensibilidade.[1-3] Devido à sua formulação química relativamente simples, o desenvolvimento de contaminantes é menos provável do que nos meios à base de ovo, normalmente utilizados para cultura de espécies de micobactérias.[4]

O Middlebrook 7H11 Agar foi desenvolvido por Cohn *et al.* através da adição de hidrolisado de caseína ao Ágar 7H10.[5] O Ágar 7H11 optimiza o crescimento de estirpes de *M. tuberculosis* exigentes, resistentes a fármacos, que têm um crescimento reduzido (ou mesmo ausente) no Ágar 7H10 ou noutros meios largamente utilizados.[5,6]

O 7H11 Selective Agar é o Ágar 7H11 modificado através da adição de quatro agentes antimicrobianos: polimixina B, carbenicilina, anfotericina B e lactato de trimetoprim. Mitchison *et al.* desenvolveram inicialmente o meio para reduzir a necessidade de procedimentos de descontaminação.[7] Constataram que os agentes alcalinos utilizados para reduzir o crescimento de microrganismos contaminantes inibiam algumas espécies de micobactérias. McClatchy recomendou a redução da concentração de carbenicilina utilizada por Mitchinson *et al.* para tornar o meio menos inibidor para micobactérias.[8]

PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

O Middlebrook 7H10 Agar é um meio definido constituído por ácido oleico-albumina enriquecido, glicerol, dextrose e compostos inorgânicos para fornecer os nutrientes necessários ao crescimento das espécies de micobactérias. A catalase destrói os peróxidos tóxicos que possam estar presentes no meio. O verde de malaquite actua como um agente inibidor, inibindo parcialmente as bactérias contaminantes.

O Middlebrook 7H11 Agar é constituído por Ágar 7H10 suplementado com digerido pancreático de caseína, para optimizar o crescimento de estirpes exigentes de *M. tuberculosis*.

A adição de agentes antimicrobianos ao Ágar 7H11 melhora o isolamento de micobactérias em amostras contendo flora mista.[6] A polimixina B é um antibiótico polipeptídico que inibe selectivamente a maioria das espécies de bacilos Gram-negativos, incluindo espécies de *Pseudomonas*, mas não de *Proteus*.[9] A carbenicilina é uma penicilina semi-sintética eficaz contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, incluindo estirpes de *Escherichia coli* resistentes a outros agentes antimicrobianos.[9] A anfotericina B é um antibiótico anti-fúngico e o lactato de trimetoprim é uma agente antimicrobiano sintético que inibe bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, incluindo espécies de *Proteus*.

REAGENTES

Middlebrook 7H10 Agar

Fórmula* aproximada por litro de água purificada

Sulfato de magnésio	0,05	g
Citrato de amónio férrico	0,04	g
Citrato de sódio	0,4	g
Sulfato de amónio	0,5	g
Glutamato monossódico	0,5	g
Fosfato dissódico	1,5	g
Fosfato monopotássico	1,5	g
Ágar	13,5	g
Piridoxina	1,0	mg
Sulfato de zinco	1,0	mg
Sulfato de cobre	1,0	mg
Biotina	0,5	mg
Cloreto de cálcio	0,5	mg
Verde de malaquite	0,25	mg
OADC enriquecido	100,0	mL
Glicerol	5,0	mL

*Ajustada e/ou suplementada conforme necessário para cumprir os critérios do desempenho.

OADC Enrichment

Fórmula* aproximada por litro de água purificada

Cloreto de sódio	8,5	g
Albumina bovina (Fracção V)	50,0	g
Dextrose	20,0	g
Catalase	0,03	g
Ácido oleico	0,6	mL

*Ajustada e/ou suplementada conforme necessário para cumprir os critérios do desempenho.

O **Middlebrook 7H11 Agar** é o Middlebrook 7H10 Agar modificado através da adição de 1,0 g/L de digerido pancreático de caseína.

O **7H11 Selective Agar** é o Middlebrook 7H11 Agar com os seguintes agentes antimicrobianos adicionados por litro:

Polimixina B	200 000	unidades
Carbenicilina	50,0	mg
Anfotericina B	10,0	mg
Lactato de trimetoprim	20,0	mg

Advertências e Precauções
Para diagnóstico *in vitro*

Caso seja observada humidade excessiva, deve inverter a parte inferior da placa sobre uma tampa inclinada e deixar secar ao ar para evitar a formação de um selo entre a parte superior e a parte inferior da placa durante a incubação.

Nas amostras podem existir microorganismos patogénicos, incluindo os vírus das hepatites e o vírus da imunodeficiência humana. No manuseamento de todos os itens contaminados com sangue e outros fluidos corporais, devem ser seguidas as "Precauções padrão"[10-13] e as linhas de orientação da instituição. Antes de serem eliminados, esterilizar em autoclave as placas preparadas, os recipientes de amostras e outros materiais contaminados.

Para a preparação de amostras clínicas não produtoras de aerossóis, tais como a preparação de esfregaços ácidos rápidos, é necessária a adopção de práticas e procedimentos e a utilização de equipamentos e instalações de contenção do Nível 2 de Segurança Biológica. Todas as actividades que envolvam a produção de aerossóis devem ser executadas numa câmara de segurança biológica de Classe I ou II. Para as actividades laboratoriais que envolvam a propagação e manipulação de culturas de *M. tuberculosis* e *M. bovis* são necessárias as práticas, equipamento de contenção e instalações do Nível 3 de Segurança Biológica. Os estudos em animais também requerem procedimentos especiais.[12]

Instruções de armazenamento: Após a recepção, armazenar os tubos no escuro, entre 2 e 8°C. Evitar congelar ou aquecer excessivamente. Abrir apenas quando estiver pronto a utilizar. Minimizar a exposição à luz. As placas preparadas que forem armazenadas no seu invólucro inicial, entre 2 e 8°C, até ao momento imediatamente anterior à sua utilização, podem ser inoculadas até ao fim do prazo de validade e incubadas durante um período máximo de 8 semanas. Antes da inoculação, deixar o meio aquecer até à temperatura ambiente.

Deterioração do produto: Não utilizar placas que apresentem sinais de contaminação microbiana, descoloração, secagem, fendas ou outros sinais de deterioração.

Foi referido que a exposição destes meios à luz solar directa ou indirecta promove a formação de formaldeído, que inibe o crescimento de micobactérias.[14]

COLHEITA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

Para obter pormenores sobre a colheita e preparação de amostras, consulte os textos apropriados.[4,6,15-17]

PROCEDIMENTO

Material fornecido: Conforme pedido. Middlebrook 7H10 // 7H10 Agar, Middlebrook 7H11 // 7H11 Selective Agar ou Middlebrook 7H10 // 7H11 Selective Agar.

Material necessário mas não fornecido: Meios de cultura auxiliares, reagentes, microrganismos de controlo da qualidade e equipamento laboratorial, conforme necessário para este procedimento.

Procedimento do teste: Utilize técnicas assépticas. A superfície do ágar deve estar lisa e húmida, mas sem humidade excessiva.

As amostras colhidas assepticamente (tecidos excisados cirurgicamente, aspirações em lesões fechadas e fluidos corporais estéreis) de doentes suspeitos de apresentarem doença por micobactérias podem ser inoculadas directamente em meios de isolamento primários. As amostras contaminadas devem ser submetidas a um procedimento de digestão-descontaminação.[4]

A solução de N-acetil-L-cisteína-hidróxido de sódio (NALC-NaOH) é recomendada como um agente de digestão e descontaminação suave mas eficaz para amostras de expectoração. Para instruções

pormenorizadas sobre os procedimentos de descontaminação e digestão, consulte as referências bibliográficas apropriadas.[4,6,15-17]

Após a inoculação, mantenha as placas protegidas da luz e incube-as em posição invertida (lado com o ágar voltado para cima), entre 35 e 37°C, numa atmosfera enriquecida com CO_2 durante um período máximo de 8 semanas. Utilize um microscópio de dissecção para examinar a superfície do ágar relativamente à existência de colónias após 5 a 7 dias de incubação e, depois deste período, uma vez por semana durante 8 semanas.

Controlo de qualidade pelo utilizador:

1. Examine as placas, verificando se existem os sinais de deterioração descritos em "Deterioração do produto".
2. Verifique o desempenho inoculando uma amostra representativa das placas com culturas puras de microrganismos de controlo estáveis que produzam as reacções conhecidas e desejadas. São recomendadas as seguintes estirpes de teste:

ESTIRPE DE TESTE	**MEIOS**	**RESULTADO ESPERADO**
Mycobacterium tuberculosis H37Ra ATCC 25177	7H10 7H11 7H11 Selective	Crescimento
Mycobacterium kansasii, grupo I ATCC 12478	7H10 7H11 7H11 Selective	Crescimento
Mycobacterium scrofulaceum, grupo II ATCC 19981	7H10 7H11 7H11 Selective	Crescimento
Mycobacterium intracellulare, grupo III ATCC 13950	7H10 7H11	Crescimento
Mycobacterium fortuitum, grupo IV ATCC 6841	7H10 7H11 7H11 Selective	Crescimento
Escherichia coli ATCC 25922	7H11 Selective	Inibição (parcial a completa).
Candida albicans ATCC 10231	7H11 Selective	Inibição (parcial a completa).

Os requisitos do controlo de qualidade devem ser efectuados de acordo com os regulamentos ou requisitos de acreditação europeus e/ou nacionais aplicáveis e com os procedimentos padrão de controlo de qualidade do seu laboratório. É recomendado que o utilizador consulte as normas do NCCLS e os regulamentos da CLIA que dizem respeito a este assunto, para obter orientações sobre práticas de controlo de qualidade apropriadas.

RESULTADOS

Após uma incubação suficiente, as placas devem exibir colónias isoladas nas áreas que foram semeadas com riscas e um crescimento confluente nas áreas de inoculação intensa.

As colónias de micobactérias são lisas a rugosas com extensões filamentosas e podem parecer, sob exame microscópico, ter uma disposição em cordas sinuosas ou outros padrões. Algumas espécies produzem pigmentação amarela a vermelha. O *M. tuberculosis* produz, tipicamente, colónias rugosas com tom "amarelado" ordenadas em cordas sinuosas. A forma como as colónias estão ordenadas determina se aparecem de cor opaca ou translúcida. Deve proceder-se à coloração Gram, a testes bioquímicos e a outros procedimentos para confirmar os achados.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Estes meios em placa preparados destinam-se ao isolamento primário. Alguns testes de diagnóstico podem ser executados com a placa primária. Contudo, é recomendada uma cultura pura para os testes bioquímicos e procedimentos serológicos. Consulte os textos apropriados para obter mais informações.[4,6,15-17]

Raramente um único meio é adequado para detectar todos os microrganismos com potencial significado clínico numa amostra. Os agentes presentes no meio selectivo poderão inibir algumas estirpes das espécies pretendidas ou permitir o crescimento de uma espécie que foram concebidos para inibir, especialmente se a espécie estiver presente em grande número na amostra. Assim, as amostras cultivadas em meios selectivos deverão ser também cultivadas em meios não selectivos para obter informações adicionais e ajudar a garantir o isolamento de potenciais agentes patogénicos.

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

Middlebrook 7H10//7H11 Selective Agar

Antes de serem comercializados, todos os lotes de Middlebrook 7H10//7H11 Selective Agar são testados para verificar as características específicas do produto. As amostras são testadas espalhando 0,01 mL de suspensões em meio líquido 7H9 de *Mycobacterium fortuitum* ATCC 6841, *M. intracellulare* ATCC 13950, *M. kansasii* ATCC 12478, *M. scrofulaceum* ATCC 19981 e *M. tuberculosis* ATCC 25177 em placa (os inóculos finais devem ter entre 10^3 e 10^4 UFC por placa). Amostras de 7H11 Selective Agar são igualmente inoculadas com 0,001 mL de diluições em soro fisiológico de *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Candida albicans* ATCC 10231 (os inóculos finais devem ter entre 10^3 e 10^4 UFC por placa). As placas são incubadas entre 35 e 37°C, durante um período máximo de 8 semanas, numa atmosfera enriquecida com CO_2. Com todas as micobactérias é observado um crescimento moderado a intenso. Com a *E. coli* e a *C. albicans* cultivadas em 7H11 Selective Agar é observada uma inibição parcial a completa.

APRESENTAÇÃO

N.º de cat.	**Descrição**
295964	**BBL** Middlebrook 7H10//7H10 Agar, emb. com 20 placas
297250	**BBL** Middlebrook 7H11//7H11 Selective Agar, emb. com 20 placas
298292	**BBL** Middlebrook 7H10//7H11 Selective Agar, caixa com 100 placas CE

BIBLIOGRAFIA

1. Middlebrook, G., M.L. Cohn, W.E. Dye, Russell, Jr., and D. Levy, 1960. Microbiologic procedures of value in tuberculosis. Acta. Tuberc. Scand. *38*:66-81.
2. Middlebrook, G., M.L. Cohn, and W.B. Scheffer. 1954. Studies on isoniazid and tubercle bacilli. III. The isolation, drug-susceptibility and catalase testing of tubercle bacilli from isoniazid-treated patients. Am. Rev. Tuberc. *70*:852-872.
3. Middlebrook, G., and M.L. Cohn. 1958. Bacteriology of tuberculosis: laboratory methods. Am. J. Public Health. *48*:844-853.
4. Kent, P.T., and G.P. Kubica. 1985. Public health mycobacteriology: a guide for the level III laboratory. USDHHS. Centers for Disease Control, Atlanta.
5. Cohn, M.L., R.F. Waggoner, and J.K. McClatchy. 1968. The 7H11 medium for the cultivation of mycobacteria. Am. Rev. Respir. Dis. *98*:295-296.
6. Nolte, F.S., and B. Metchock. 1995. *Mycobacterium*, p. 400-437. *In* P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Yolken (ed.), Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

7. Mitchison, D.A., B.W. Allen, L. Carrol, J.M. Dickinson, and V.R. Aber. 1972. A selective oleic acid albumin agar medium for tubercle bacilli. J. Med. Mycol. *5*:165-175.
8. McClatchy, J.K., R.F. Waggoner, W. Kanes, M.S. Cernich, and T.L. Bolton. 1976. Isolation of mycobacteria from clinical specimens by use of a selective 7H11 medium. Am. J. Clin. Pathol. *65*:412-415.
9. Garrod, L.P., and F. O'Grady. 1971. Antibiotic and chemotherapy, 3rd ed. Williams & Wilkins, Baltimore.
10. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
11. 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.
12. 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, D.C.
13. 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.
14. Milliner, R.A., K.D. Strottmeier, and G.P. Kubica. 1969. Formaldehyde: a photothermal activated toxic substance produced in Middlebrook 7H10 medium. Am. Rev. Respir. Dis. *99*:603-607.
15. Cernoch, P.L., R.K. Enns, M.A. Saubolle, and R.J. Wallace, Jr. 1994. Cumitech 16A, Laboratory diagnosis of the mycobacterioses. Coordinating ed., R.S. Weissfeld. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
16. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 1998. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 10th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
17. Isenberg, H.D. (ed.). 1992. Clinical microbiology procedures handbook, vol.Ê1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

BD, BD Logo and BBL are trademarks of Becton, Dickinson and Company. ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection. © 2003 BD.

Manufacturer
Producent
Fabrikant
Valmistaja
Fabricant
Hersteller
Κατασκευαστής
Ditta produttrice
Fabrikant
Fabricante
Fabricante
Tillverkare

Use by
Anvendes før
Houdbaar tot
Viimeinkäyttöpäivä
A utiliser avant
Verwendbar bis
Ημερομηνία λήξης
Usare entro
Brukes før
Utilizar em
Usar antes de
Använd före

YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month)
ÅÅÅÅ-MM-DD / ÅÅÅÅ-MM (MM = slutning af måned)
JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand)
VVVV-KK-PP / VVVV-KK (kuukauden loppuun mennessä)
AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois)
JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende)
EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα)
AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese)
ÅÅÅÅ-MM-DD / ÅÅÅÅ-MM (MM = slutten av måneden)
AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês)
aaaa-mm-dd / aaaa-mm (mm = fin del mes)
ÅÅÅÅ-MM-DD / ÅÅÅÅ-MM (MM = slutet på månaden)

REF

Catalog number
Katalognummer
Catalogusnummer
Tuotenumero
Numéro catalogue
Bestellnummer
Αριθμός καταλόγου
Numero di catalogo
Katalognummer
Número do catálogo
Número de catálogo
Katalognummer

EC REP

Authorized Representative in the European Community
Autoriseret repræsentant i EU
Erkend vertegenwoordiger in de Europese Unie
Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä
Représentant agréé pour la C.E.E.
Autorisierte EG-Vertretung
Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα
Rappresentante autorizzato nella Comunità europea
Autorisert representant i EU
Representante autorizado na União Europeia
Representante autorizado en la Comunidad Europea
Auktoriserad representant i EU

IVD

In Vitro Diagnostic Medical Device
In vitro diagnostisk medicinsk anordning
Medisch hulpmiddel voor in vitro diagnose
Lääkinnällinen in vitro -diagnostiikkalaite
Dispositif médical de diagnostic in vitro
Medizinisches In-vitro-Diagnostikum
In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή
Dispositivo medico diagnostico in vitro.
In vitro diagnostisk medisinsk utstyr
Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
Dispositivo médico de diagnóstico in vitro
Medicinsk anordning för in vitro-diagnostik

Temperature limitation
Temperaturbegrænsning
Temperatuurlimiet
Lämpötilarajoitus
Température limite
Zulässiger Temperaturenbereich
Όριο θερμοκρασίας
Temperatura limite
Temperaturbegrensning
Limitação da temperatura
Limitación de temperatura
Temperaturbegränsning

LOT

Batch Code (Lot)
Batch kode (Lot)
Chargenummer (lot)
Eräkoodi (LOT)
Code de lot (Lot)
Chargencode (Chargenbezeichnung)
Κωδικός παρτίδας (Παρτίδα)
Codice del lotto (partita)
Batch-kode (Serie)
Código do lote (Lote)
Código de lote (Lote)
Satskod (parti)

Consult Instructions for Use
Læs brugsanvisningen
Raadpleeg gebruiksaanwijzing
Tarkista käyttöohjeista
Consulter la notice d'emploi
Gebrauchsanweisung beachten
Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης
Consultare le istruzioni per l'uso
Se i bruksanvisningen
Consulte as instruções de utilização
Consultar las instrucciones de uso
Se bruksanvisningen

Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, Maryland 21152 USA
800-638-8663

EC REP BENEX Limited
Bay K 1a/d, Shannon Industrial Estate
Shannon, County Clare, Ireland
Tel: 353-61-47-29-20
Fax: 353-61-47-25-46