

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ ΠΟΙΟΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ**I ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

To Middlebrook and Cohn 7H10 Agar είναι ένα υλικό καλλιέργειας μυκοβακτηριδίων.

II ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ ΑΠΟΔΟΣΗΣ**A. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΝΟΦΘΑΛΜΙΣΜΑΤΩΝ**

1. Ενοφθαλμίστε σωληνάρια κεκλιμένης καλλιέργειας Lowenstein-Jensen Medium με καλλιέργειες παρακαταθήκης των σχετικών μυκοβακτηριδιακών στελεχών με χρήση αποστειρωμένων μπατονετών ενοφθαλμισμού.
2. Επωάστε τα σωληνάρια με ξεσφιγμένα καπάκια σε αερόβια ατμόσφαιρα συμπληρωμένη με διοξείδιο του άνθρακα στους $35 \pm 2^\circ\text{C}$ έως ότου επιτευχθεί έντονη ανάπτυξη (συνήθως εντός 2 έως 3 εβδομάδων).
3. Συλλέξτε το υλικό της ανάπτυξης με αποστειρωμένη ακονισμένη μπατονέτα, αφαιρώντας απαλά τα κύτταρα από την επιφάνεια του υλικού καλλιέργειας με προσοχή, έτσι ώστε να μη συμπεριλάβετε υλικό καλλιέργειας με τη συγκομιδή των κυττάρων.

α. Για το *Mycobacterium tuberculosis* ATCC 25177:

- (1) Μεταφέρετε το υλικό της ανάπτυξης σε 5,0 mL ζυμού Middlebrook 7H9 με γλυκερόλη σε αποστειρωμένο γυάλινο σωληνάριο με βιδωτό καπάκι, το οποίο περιέχει αποστειρωμένα γυάλινα σφαιρίδια.
- (2) Υποβάλετε σε περιδίνηση καλά (επί αρκετά λεπτά) έως ότου το εναιώρημα δεν περιέχει πλέον μεγάλα συσσωματώματα.
- (3) Συγκρίνετε το εναιώρημα αυτό με ένα πρότυπο νεφελόμετρου McFarland αρ. 1. Το εναιώρημα θα πρέπει να είναι πιο θολερό από το πρότυπο.
- (4) Τοποθετήστε το σωληνάριο σε βάση επί 2 έως 3 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου, έτσι ώστε να επιτραπεί η καθίζηση των μεγάλων σωματιδίων στον πυθμένα.
- (5) Μεταφέρετε το υπερκείμενο σε αποστειρωμένο δοχείο.
- (6) Ρυθμίστε τη θολρότητα του εναιωρήματος στο πρότυπο McFarland αρ. 1 προσθέτοντας αργά στείρο ζυμό Middlebrook 7H9 με γλυκερόλη. Ανακινήστε καλά.
- (7) Αραιώστε έως τα 10^5 CFU/mL πριν από τη χρήση. Αναμείξτε καλά και ενοφθαλμίστε με γραμμωτή επίστρωση το υλικό εξέτασης με χρήση βαθμονομημένου κρίκου 0,01 mL.

β. Για όλα τα άλλα μυκοβακτηριδιακά στελέχη:

- (1) Μεταφέρετε το υλικό της ανάπτυξης σε αποστειρωμένο σωληνάριο φυγοκέντρου 50 mL με βιδωτό καπάκι, το οποίο περιέχει 8 έως 12 αποστειρωμένα γυάλινα σφαιρίδια (διαμέτρου 2 mm) και 5 mL αραιωτικού μυκοβακτηριδίων που παρασκευάζεται ως εξής:
 - Αναμείξτε τα ακόλουθα συστατικά σε ένα δοχείο του 1 L και ρυθμίστε το pH, με χρήση υδροξειδίου του νατρίου 1 N, σε 6,7 έως 7,0.
Βόεια αλβουμίνη (χωρίς λιπαρά οξέα) 1,0 g
Polysorbate 80 0,1 mL
Κεκαθαρμένο νερό 500 mL
 - Αποστειρώστε με διήθηση σε μεμβράνη (φίλτρο 0,2 μ)
 - Διανείμετε ασηπτικά σε ποσότητες των 5,5 mL σε αποστειρωμένα σωληνάρια με βιδωτά καπάκια.
- (2) Γαλακτωματοποιήστε το υλικό μυκοβακτηριδιακής ανάπτυξης στο πλευρικό τοίχωμα ενός σωληναρίου φυγοκέντρου με βιδωτό καπάκι, με χρήση μπατονέτας. Αναμείξτε το υλικό της ανάπτυξης με το αραιωτικό.
- (3) Πωμάτιστε το σωληνάριο και υποβάλετε σε περιδίνηση επί 10 λεπτά περίπου, έως ότου το υλικό της ανάπτυξης εναιωρηθεί καλά και απαλλαγεί από μεγάλα συσσωματώματα.
- (4) Προσθέστε 15 mL στείρου αραιωτικού μυκοβακτηριδίων και αναμείξτε σχολαστικά.
- (5) Συγκρίνετε το εναιώρημα αυτό με ένα πρότυπο νεφελόμετρου McFarland αρ. 1. Το εναιώρημα θα πρέπει να είναι πιο θολερό από το πρότυπο.
- (6) Τοποθετήστε το σωληνάριο σε βάση επί 2 έως 3 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου για να επιτραπεί η καθίζηση των μεγάλων σωματιδίων στον πυθμένα.
- (7) Αναρροφήστε το υπερκείμενο και μεταφέρετέ το σε ένα αποστειρωμένο δοχείο. Το εναιώρημα πρέπει να είναι πιο θολερό από ένα πρότυπο McFarland αρ. 1 και απαλλαγμένο από μεγάλα σωματίδια. Εάν υπάρχουν ακόμα μεγάλα σωματίδια, αναμείξτε το εναιώρημα και αφήστε το να σταθεί επί 1 ώρα επιπλέον. Μεταφέρετε το υπερκείμενο σε αποστειρωμένο δοχείο.
- (8) Ρυθμίστε τη θολρότητα του εναιωρήματος στο πρότυπο McFarland αρ. 1 προσθέτοντας αργά στείρο αραιωτικό μυκοβακτηριδίων. Ανακινήστε καλά.

- (9) Διανείμετε κλάσματα του εναιωρήματος σε φιαλίδια καταψύκτη, τα οποία φέρουν σήμανση με την ταυτοποίηση του μικροοργανισμού που περιέχουν και την ημερομηνία παρασκευής.
- (10) Καταψύξτε τα εναιωρήματα τοποθετώντας τα φιαλίδια σε καταψύκτη χαμηλής θερμοκρασίας στους - 60 °C. Τα φιαλίδια είναι δυνατό να φυλαχθούν επί 6 μήνες το πολύ.
- (11) Για τη χρήση, αφαιρέστε το κατεψυγμένο φιαλίδιο από τον καταψύκτη και αποψύξτε ταχέως το περιεχόμενο, τοποθετώντας το φιαλίδιο σε υδατόλουτρο 30 έως 35 °C. Αραιώστε έως τα 10⁵ CFU/mL πριν από τη χρήση. Αναμείξτε καλά και ενοφθαλμίστε με γραμμωτή επίστρωση το υλικό καλλιέργειας της εξέτασης με χρήση βαθμονομημένου κρίκου 0,01 mL.

B. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΓΙΑ ΥΛΙΚΟ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

1. Ενοφθαλμίστε αντιπροσωπευτικά δείγματα με τις καλλιέργειες που παρατίθενται παρακάτω.
 - α. Βεβαιωθείτε ότι οι επιφάνειες του άγαρ είναι απαλλαγμένες από υγρασία πριν από τον ενοφθαλμισμό.
 - β. Με χρήση αποστειρωμένων, αναλώσιμων βαθμονομημένων κρίκων 0,01 mL, ενοφθαλμίστε τα δοχεία της εξέτασης με μυκοβακτηριδιακές καλλιέργειες που παρασκευάστηκαν όπως περιγράφεται παραπάνω.
 - γ. Επώαστε όλα τα δοχεία με ξεσφιγμένα καπάκια στους 35 ± 2 °C, σε αερόβια ατμόσφαιρα, συμπληρωμένη με διοξείδιο του άνθρακα.
 - δ. Ως μάρτυρες, συμπεριλάβετε σωληνάρια άγαρ Middlebrook 7H10 που έχετε προηγουμένως υποβάλει σε εξέταση.
2. Εξετάστε τα δοχεία μετά από 7, 14 και, εάν είναι απαραίτητο, 21 ημέρες για ανάπτυξη, εκλεκτικότητα και χρώση.
3. Αναμενόμενα αποτελέσματα

Μικροοργανισμοί	ATCC	Ανάκτηση
* <i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Ra	25177	Ανάπτυξη
* <i>Mycobacterium kansasii</i> , ομάδα I	12478	Ανάπτυξη
* <i>Mycobacterium scrofulaceum</i> , ομάδα II	19981	Ανάπτυξη
* <i>Mycobacterium intracellulare</i> , ομάδα III	13950	Ανάπτυξη
* <i>Mycobacterium fortuitum</i> , ομάδα IV	6841	Ανάπτυξη

*Συνιστώμενο στέλεχος μικροοργανισμού για ποιοτικό έλεγχο χρήστη.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Πρέπει να παρακολουθείται από τους χρήστες, σύμφωνα με το έγγραφο M22-A3 της CLSI.

III ΕΠΙΠΛΕΟΝ ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

1. Εξετάστε τα σωληνάρια ή τις φιάλες όπως περιγράφεται στην ενότητα “Αλλοίωση του προϊόντος”.
2. Εξετάστε οπτικά αντιπροσωπευτικά σωληνάρια ή φιάλες για να βεβαιωθείτε ότι τυχόν υπάρχοντα φυσικά ελαττώματα δεν παρεμβαίνουν στη χρήση.
3. Επώαστε τα μη ενοφθαλμισμένα αντιπροσωπευτικά σωληνάρια ή φιάλες στους 20 έως 25 °C και στους 30 έως 35 °C και εξετάστε μετά από 7 ημέρες για τυχόν μικροβιακή μόλυνση.

ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ

IV ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ

Το Middlebrook and Cohn 7H10 Agar χρησιμοποιείται σε ποιοτικές διαδικασίες για την απομόνωση και την καλλιέργεια μυκοβακτηριδίων.

V ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ

Τα τελευταία έτη, έχουν επινοηθεί πολλά υλικά καλλιέργειας μυκοβακτηριδίων. Τα αρχικά ήταν σκευάσματα με βάση το αυγό και περιελάμβαναν τα υλικά καλλιέργειας Lowenstein-Jensen και Petraghani. Οι Dubos και Middlebrook ήταν καθοριστικοί στην ανάπτυξη διαφόρων σκευασμάτων που περιείχαν ελαϊκό οξύ και αλβουμίνη ως βασικά συστατικά για βοήθεια στην ανάπτυξη του βακίλλου της φυματίωσης και την προστασία των μικροοργανισμών από μια ποικιλία τοξικών παραγόντων.¹ Ακολούθως, οι Middlebrook και Cohn βελτίωσαν την παρασκευή του άγαρ ελαϊκού οξέος-αλβουμίνης και επέτυχαν ταχύτερη και πιο εκτεταμένη ανάπτυξη του είδους *Mycobacterium* στο υλικό καλλιέργειας τους, το οποίο ονομάστηκε 7H10.^{2,3} Έχει αναφερθεί ότι στο υλικό καλλιέργειας 7H10 τείνουν να αναπτύσσονται λιγότεροι μολυσματικοί παράγοντες από ό,τι στα υλικά καλλιέργειας με βάση το αυγό που χρησιμοποιούνταν συνήθως για την καλλιέργεια των μυκοβακτηριδίων.⁴

VI ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Το Middlebrook and Cohn 7H10 Agar περιέχει μια ποικιλία ανόργανων αλάτων που παρέχουν ουσίες που είναι απαραίτητες για την ανάπτυξη των μυκοβακτηριδίων. Το κιτρικό νάτριο, όταν μετατρέπεται σε κιτρικό οξύ, χρησιμεύει για τη συγκράτηση ορισμένων ανόργανων κατιόντων στο διάλυμα. Η γλυκερόλη είναι μια πλούσια πηγή άνθρακα και ενέργειας. Το ελαϊκό οξύ, καθώς και άλλα λιπαρά οξέα μακράς αλυσίδας, είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν από βακίλλους της φυματίωσης και διαδραματίζουν ένα σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό των μυκοβακτηριδίων. Η πρωτογενής επίδραση της αλβουμίνης είναι η προστασία των βακίλλων της φυματίωσης από τοξικούς παράγοντες και, επομένως, ενισχύει την ανάπτυξή τους σε πρωτογενή απομόνωση.

Η καταλάση καταστρέφει τα τοξικά υπεροξειδία που ενδέχεται να υπάρχουν στο υλικό καλλιέργειας. Μερική αναστολή των βακτηριδίων επιτυγχάνεται με την παρουσία της χρωστικής πράσινου του μαλαχίτη.

VII ANΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Middlebrook and Cohn 7H10 Agar

Σύνθεση* κατά προσέγγιση ανά λίτρο κεκαθαμένου νερού	
Θειικό μαγνήσιο	0,05 g
Κιτρικό σιδηρούχο(III) αμμώνιο	0,04 g
Κιτρικό νάτριο	0,4 g
Θειικό αμμώνιο	0,5 g
Γλουταμικό μονονάτριο	0,5 g
Φωσφορικό δινάτριο	1,5 g
Φωσφορικό μονοκάλιο	1,5 g
Άγαρ	13,5 g
Χλωριούχο νάτριο	0,85 g
Δεξτρόζη	2,0 g
Βόεια αλβουμίνη (Κλάσμα V)	5,0 g
Καταλάση	3,0 mg
Πυριδοξίνη	1,0 mg
Θειικός ψευδάργυρος	1,0 mg
Θειικός χαλκός	1,0 mg
Βιοτίνη	0,5 mg
Χλωριούχο ασβέστιο	0,5 mg
Πράσινο του μαλαχίτη	0,25 mg
Ελαϊκό οξύ	0,06 mL
Γλυκερόλη	5,0 mL

*Ρυθμισμένο ή/και συμπληρωμένο όπως απαιτείται, έτσι ώστε να πληρούνται τα κριτήρια απόδοσης.

Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις: Για *in vitro* διαγνωστική χρήση.

Τα σωληνάρια και οι φιάλες με σφισμένα καπάκια θα πρέπει να ανοίγονται προσεκτικά για την αποφυγή τυχόν τραυματισμού λόγω θραύσης του γυαλιού.

Σε κλινικά δείγματα ενδέχεται να υπάρχουν παθογόνοι μικροοργανισμοί, συμπεριλαμβανομένων των ιών της ηπατίτιδας και του ιού της ανοσοανεπάρκειας του ανθρώπου. Κατά το χειρισμό όλων των ειδών που είναι μολυσμένα με αίμα και άλλα σωματικά υγρά, θα πρέπει να ακολουθούνται οι "Τυπικές προφυλάξεις"⁵⁻⁸ και οι κατευθυντήριες οδηγίες των ιδρυμάτων. Πριν από την απόρριψη, αποστειρώνετε τα παρασκευασμένα σωληνάρια, τα δοχεία δειγμάτων και άλλα μολυσμένα υλικά σε αυτόκαυστο.

Για χειρισμούς κλινικών δειγμάτων που δεν παράγουν αερόλυμα, όπως παρασκευή οξεάντοχων επιχρισμάτων, απαιτούνται πρακτικές και διαδικασίες, εξοπλισμός και εγκαταστάσεις περιορισμού βιοασφάλειας επιπέδου 2. Όλες οι δραστηριότητες που παράγουν αερολύματα πρέπει να διεξάγονται σε θάλαμο βιολογικής ασφάλειας τάξης I ή II. Για εργαστηριακές δραστηριότητες πολλαπλασιασμού και χειρισμού καλλιεργείων του *M. tuberculosis* και του *M. bovis*, απαιτούνται πρακτικές, εξοπλισμός και εγκαταστάσεις περιορισμού βιοασφάλειας επιπέδου 3. Οι μελέτες με πειραματόζωα απαιτούν επίσης ειδικές διαδικασίες.⁷

Οδηγίες φύλαξης: Κατά την παραλαβή, φυλάσσετε τα σωληνάρια και τις φιάλες στο σκότος στους 2–8 °C. Αποφύγετε την κατάψυξη και την υπερβολική θέρμανση. Ανοίγετε μόνον όταν είστε έτοιμοι για χρήση. Ελαχιστοποιήστε την έκθεση στο φως. Υλικά καλλιέργειας, που έχουν φυλαχθεί σύμφωνα με την επισήμανση έως ακριβώς πριν από τη χρήση, είναι δυνατό να ενοφθαλμιστούν έως την ημερομηνία λήξης και να επωαστούν για τους συνιστώμενους χρόνους επώασης. Αφήστε το υλικό καλλιέργειας να θερμανθεί σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τον ενοφθαλμισμό.

Αλλοίωση των προϊόντων: Μη χρησιμοποιείτε τα σωληνάρια ή τις φιάλες εάν παρουσιάζουν ενδείξεις μικροβιακής μόλυνσης, αποχρωματισμό, ξηρότητα ή άλλα σημεία αλλοίωσης.

VIII ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Δείγματα κατάλληλα για καλλιέργεια είναι δυνατό να υποβληθούν σε χειρισμό με χρήση διαφόρων τεχνικών. Για λεπτομερείς πληροφορίες, συμβουλευτείτε τα κατάλληλα κείμενα.⁹⁻¹¹ Τα δείγματα θα πρέπει να λαμβάνονται πριν από τη χορήγηση αντιμικροβιακών παραγόντων. Πρέπει να λαμβάνονται μέτρα για την άμεση χορήγηση στο εργαστήριο.

IX ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Παρεχόμενο υλικό: Middlebrook and Cohn 7H10 Agar

Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται: Βοηθητικά υλικά καλλιέργειας, αντιδραστήρια, μικροοργανισμοί ποιοτικού ελέγχου και εργαστηριακός εξοπλισμός, όπως απαιτείται.

Διαδικασία της εξέτασης: Εφαρμόζετε άσηπτες τεχνικές.

Οι διαδικασίες εξέτασης είναι εκείνες που συνιστώνται από τα Centers for Disease Control and Prevention (CDC) για πρωτογενή απομόνωση από δείγματα που περιέχουν μυκοβακτηρίδια.⁹ Το διάλυμα Ν-ακετυλ-L-κυστεΐνης-υδροξειδίου του νατρίου (NALC-NaOH) συνιστάται ως ήπιος, αλλά αποτελεσματικός παράγοντας πέψης και απολύμανσης. Τα αντιδραστήρια αυτά παρέχονται στο **BBL MycoPrep** Mycobacterial Specimen Digestion/Decontamination Kit. Για λεπτομερείς οδηγίες απολύμανσης και καλλιέργειας, συμβουλευτείτε τις κατάλληλες αναφορές.⁹⁻¹²

Μετά τον ενοφθαλμισμό, διατηρείτε τα δοχεία προστατευμένα από το φως και τοποθετήστε τα σε κατάλληλο σύστημα που παρέχει αερόβια ατμόσφαιρα εμπλουτισμένη με διοξείδιο του άνθρακα. Επωάστε στους $35 \pm 2^\circ\text{C}$.

Τα υλικά κεκλιμένης καλλιέργειας και τα εμφιαλωμένα υλικά καλλιέργειας θα πρέπει να ενοφθαλμίζονται σε οριζόντιο επίπεδο, έως ότου απορροφηθεί το ενοφθαλμισμό. Τα σωληνάρια και οι φιάλες θα πρέπει να έχουν ξεσφιγμένα βιδωτά καπάκια για τις πρώτες 3 εβδομάδες, έτσι ώστε να επιτρέπεται η κυκλοφορία του διοξειδίου του άνθρακα για την έναρξη της ανάπτυξης. Ακολούθως, για την πρόληψη της αφυδάτωσης, σφίξτε τα καπάκια και ξεσφίγγετε τα για λίγο μία φορά την εβδομάδα. Τοποθετείτε τα σωληνάρια σε όρθια θέση εάν δεν υπάρχει επαρκής διαθέσιμος χώρος.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Καλλιέργειες από δερματικές βλάβες για τις οποίες υπάρχει υποψία ότι είναι *M. marinum* ή *M. ulcerans* θα πρέπει να επωάζονται στους 25 έως 33 °C για πρωτογενή απομόνωση. Καλλιέργειες για τις οποίες υπάρχει υποψία ότι περιέχουν *M. avium* ή *M. xenopi* εμφανίζουν βέλτιστη ανάπτυξη στους 40 έως 42 °C.⁹ Επωάστε μια καλλιέργεια εις διπλούν στους 35 έως 37 °C.

Ποιοτικός έλεγχος χρήστη: Δείτε την ενότητα “Διαδικασίες ποιοτικού ελέγχου”.

Πρέπει να τηρούνται οι απαιτήσεις ποιοτικού ελέγχου σύμφωνα με τους ισχύοντες τοπικούς, πολιτειακούς ή/και ομοσπονδιακούς κανονισμούς ή τις απαιτήσεις πιστοποίησης και τις πρότυπες διαδικασίες ποιοτικού ελέγχου του εργαστηρίου σας. Συνιστάται ο χρήστης να ανατρέχει στις σχετικές κατευθυντήριες οδηγίες του CLSI και τους κανονισμούς του CLIA για τις κατάλληλες πρακτικές ποιοτικού ελέγχου.

X ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Η παρατήρηση των καλλιεργιών πρέπει να γίνεται εντός 5 έως 7 ημερών μετά τον ενοφθαλμισμό και μία φορά την εβδομάδα ακολούθως, επί 8 εβδομάδες το πολύ.

Καταγράψτε τις παρατηρήσεις:⁹

1. Αριθμός ημερών που απαιτούνται για να καταστούν οι αποικίες μακροσκοπικά ορατές. Οι μικροοργανισμοί που αναπτύσσονται ταχέως σχηματίζουν ώριμες αποικίες εντός 7 ημερών. Οι μικροοργανισμοί που αναπτύσσονται βραδέως απαιτούν περισσότερες από 7 ημέρες για το σχηματισμό ώριμων αποικιών.
2. Αριθμός αποικιών (φιάλες):
Απουσία αποικιών = Αρνητικό
Λιγότερες από 50 αποικίες = Πραγματικός αριθμός
50 έως 100 αποικίες = 1+
100 έως 200 αποικίες = 2+
Σχεδόν συρρέουσες (200 έως 500) = 3+
Συρρέουσες (περισσότερες από 500) = 4+
3. Παραγωγή χρωστικής:
Λευκό, κρεμ ή ωχροκίτρινο = μη χρωμογόνο (NC)
Λεμονί, κίτρινο, πορτοκαλί, κόκκινο = χρωμογόνο (Ch)

Τα χρωματισμένα επιχρίσματα ενδέχεται να εμφανίσουν οξεάντοχους βακίλλους, οι οποίοι αναφέρονται μόνον ως “οξεάντοχοι βάκιλλοι”, εκτός εάν πραγματοποιηθούν οριστικές εξετάσεις.

Οι φιάλες είναι δυνατό να εξετάζονται με αναστροφή τους πάνω στην αντικειμενοφόρο πλάκα ενός μικροσκοπίου ανατομής. Διαβάστε σε μεγέθυνση 10 έως 60x με εκπνεόμενο φως. Παρατηρήστε ταχέως σε μεγέθυνση 10 έως 20x για την παρουσία αποικιών. Μπορείτε να διευκολυνθείτε με υψηλότερη μεγέθυνση (30 έως 60x) στην παρατήρηση της μορφολογίας των αποικιών, όπως, π.χ. ελικοειδείς αποικίες.

XI ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Για την ταυτοποίηση, οι μικροοργανισμοί πρέπει να είναι σε καθαρή καλλιέργεια. Για τελική ταυτοποίηση, θα πρέπει να εκτελούνται μορφολογικές, βιοχημικές ή/και ορολογικές εξετάσεις. Συμβουλευτείτε τα κατάλληλα κείμενα για λεπτομερείς πληροφορίες και τις συνιστώμενες διαδικασίες.⁹⁻¹²

XII ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Πριν από τη διάθεσή τους, όλες οι παρτίδες των δοχείων Middlebrook and Cohn 7H10 Agar εξετάζονται ως προς τα χαρακτηριστικά απόδοσης. Με χρήση βαθμονομημένου κρίκου 0,01 mL, αντιπροσωπευτικά δείγματα της παρτίδας ενοφθαλμίζονται με γραμμωτή επίστρωση με καλλιέργειες αραιωμένες σε περιεκτικότητα 10^5 μονάδων σχηματισμού αποικιών (CFU) ανά mL *Mycobacterium kansasii* ομάδας I (ATCC 21478), *M. scrofulaceum* ομάδας II (ATCC 19981), *M. intracellulare*

ομάδας III (ATCC 13950), *M. fortuitum* ομάδας IV (ATCC 6841) και *M. tuberculosis* (ATCC 25177). Μετά τον ενοφθαλμισμό, τα δοχεία επωάζονται με ξεσφιγμένα καπάκια στους 35 ± 2 °C σε ατμόσφαιρα συμπληρωμένη με 5 έως 10% διοξείδιο του άνθρακα. Τα δοχεία παρατηρούνται για ανάπτυξη και χρώση μετά από 7, 14 και 21 ημέρες επώασης. Όλοι οι μικροοργανισμοί εμφανίζουν μέτρια έως έντονη ανάπτυξη εντός 21 ημερών. Η χρώση των αποικιών έχει ως εξής: το *M. kansasii* είναι λευκό έως κίτρινο κρεμ, το *M. scrofulaceum* είναι μέτρια κίτρινο έως πορτοκαλί, τα *M. tuberculosis*, *M. intracellulare* και *M. fortuitum* είναι χρώματος κρεμ.

XIII ΔΙΑΘΕΣΙΜΟΤΗΤΑ

Αρ. κατ.	Περιγραφή
220958	BD BBL Middlebrook and Cohn 7H10 Agar Slants, συσκευασία των 10 σωληναρίων, μεγέθους A
220959	BD BBL Middlebrook and Cohn 7H10 Agar Slants, χαρτονένια συσκευασία των 100 σωληναρίων, μεγέθους A
297448	BD BBL Middlebrook and Cohn 7H10 Agar Slants, συσκευασία των 10 σωληναρίων, μεγέθους C
297396	BD BBL Middlebrook and Cohn 7H10 Agar Slants, χαρτονένια συσκευασία των 100 σωληναρίων, μεγέθους C
297274	BD BBL Middlebrook and Cohn 7H10 Agar, φιάλες του 1 oz (30 mL), χαρτονένια συσκευασία των 100 τεμαχίων

XIV ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Dubos, R.J., and G. Middlebrook. 1947. Media for tubercle bacilli. Am. Rev. Tuberc. 56:334-345.
2. Middlebrook, G., and M.L. Cohn. 1958. Bacteriology of tuberculosis: laboratory methods. Am. J. Pub. Health. 48:844-853.
3. Middlebrook, G., M.L. Cohn, and W.B. Dye, W.B. Russell, Jr., and D. Levy. 1960. Microbiologic procedures of value in tuberculosis. Acta Tuberc. Scand. 38:66-81.
4. Kubica, G.P., and W.E. Dye. 1967. Laboratory methods for clinical and public health mycobacteriology. PHS Publication No. 1547. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
5. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. Kent, P.T., and G.P. Kubica. 1985. Public health mycobacteriology: a guide for the level III laboratory. USDHHS. Centers for Disease Control, Atlanta.
10. Cernoch, P.L., R.L. Enns, M.A. Saubolle, and R.J. Wallace, Jr. 1994. Cumitech 16A, Laboratory diagnosis of the mycobacterioses. Coordinating ed., A.S. Weissfeld. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
11. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
12. Metchock, B.G., F.S. Nolte, and R.J. Wallace, Jr. 1999. *Mycobacterium*, p. 399-437. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

Τεχνική Εξυπηρέτηση και Υποστήριξη της BD Diagnostics: παρακαλούμε επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της BD ή τη διεύθυνση www.bd.com/ds.



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA



Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD