



## BD Middlebrook 7H10 Agar

### НАЗНАЧЕНИЕ

**BD Middlebrook 7H10 Agar** (агар Миддлбрука 7H10) используется для изоляции и культивирования микобактерий.

### ПРИНЦИПЫ И ОПИСАНИЕ МЕТОДИКИ

Микробиологический метод.

На протяжении этого века было разработано множество питательных сред для культивирования микобактерий. Первоначально использовались рецептуры на яичной основе, в число которых входят среда Левенштейна-Йенсена и среда Петраньяни. Дюбо (Dubos) и Миддлбрук (Middlebrook) разработали ряд рецептур, содержащих олеиновую кислоту и альбумин в качестве основных ингредиентов для обеспечения роста туберкулезных бацилл и защиты микроорганизмов от ряда токсических агентов.<sup>1</sup> Позже Миддлбрук и Кон (Cohn) усовершенствовали рецептуру агара с олеиновой кислотой и альбумином и добились более быстрого и интенсивного роста видов *Mycobacterium* в среде, получившей обозначение 7H10.<sup>2,3</sup> Сообщалось, что в среде 7H10 наблюдается рост меньшего количества микроорганизмов-загрязнителей, чем в среде на яичной основе, обычно используемой для культивирования микобактерий.<sup>4</sup>

В агаре **BD Middlebrook 7H10** содержатся различные неорганические соли, которые служат веществами, необходимыми для роста микобактерий. Натрия цитрат, превращаясь в лимонную кислоту, служит для удержания определенных неорганических катионов в растворе. Глицерин является богатым источником углерода и энергии. Олеиновая кислота, как и другие жирные кислоты с длинной углеродной цепочкой, может использоваться туберкулезными бациллами и играет важную роль в метаболизме микобактерий. Каталаза разрушает токсичные пероксиды, которые могут присутствовать в среде. Основной эффект альбумина заключается в защите туберкулезных бацилл от токсических агентов, что позволяет повысить степень их выделения при первичной изоляции. Частичное ингибирование загрязняющих бактерий достигается благодаря присутствию красителя малахитового зеленого.

### РЕАГЕНТЫ

#### **BD Middlebrook 7H10 Agar**

Рецептура\* на литр очищенной воды

Магния сульфат	0,025 г	Альбумин бычьей сыворотки V	5,0 г
Железа-аммония цитрат	0,04	Каталаза	0,004
Натрия цитрат	0,4	Пиридоксин	0,001
Аммония сульфат	0,5	Цинка сульфат	0,001
Мононатрия глутамат	0,5	Меди сульфат	0,001
Динатрия фосфат	1,5	Биотин	0,0005
Монокалия фосфат	1,5	Кальция хлорид	0,0005
Агар	17,0	Малахитовый зеленый	0,00025
Натрия хлорид	0,85	Глицерин	5,0
Глюкоза	2,0	Олеиновая кислота	0,05 мл

pH 6,6 +/- 0,2

\* При необходимости изменяется и/или дополняется для соответствия критериям эффективности.

### МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

**IVD** Только для профессионального применения. ☒

Не используйте чашки при наличии признаков бактериального заражения, изменения цвета, высыхания или других признаков разложения продукта.

Прочитайте документ **ОБЩИЕ ИНСТРУКЦИИ ПО ПРИМЕНЕНИЮ**, в котором приведено описание асептических методов работы, биологических опасностей и утилизации использованных продуктов.

Лабораторные процедуры с микобактериями требуют специального оборудования и технологий, сводящих к минимуму биологическую опасность.<sup>5-7</sup> При работе с образцами и культурами требуется соблюдать меры биологической безопасности 3 уровня.

## ХРАНЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ

После получения храните чашки в темноте при температуре от 2 до 8 °С в оригинальной обертке до начала использования. Избегайте замораживания и перегрева. Чашки могут быть засеяны до даты истечения срока годности (см. этикетку на упаковке) и инкубированы в течение рекомендованного времени инкубации.

Чашки из открытых стопок по 10 чашек могут использоваться в течение одной недели при условии хранения с соблюдением чистоты при температуре от 2 до 8 °С.

## КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Засейте репрезентативные образцы следующими штаммами (подробные сведения см. в документе **ОБЩИЕ ИНСТРУКЦИИ ПО ПРИМЕНЕНИЮ**). Выдерживайте чашки при температуре 35 ± 2 °С в аэробной атмосфере, обогащенной диоксидом углерода.

Штамм	Инкубация	Результат
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Ra ATCC 25177	от 2 до 3 нед.	Рост от хорошего до превосходного
<i>Mycobacterium fortuitum</i> DSM 46621	от 2 до 3 нед.	Рост от хорошего до превосходного
<i>Mycobacterium smegmatis</i> DSM 43061	от 2 до 5 дн.	Рост от хорошего до превосходного
<i>Mycobacterium terrae</i> ATCC 15755	от 2 до 3 нед.	Рост от умеренного до превосходного
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	от 2 до 5 дн.	Ингибируются
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	от 2 до 5 дн.	Ингибируются
Незасеянные	Янтарные, очень светлого зеленоватого оттенка	

## МЕТОДИКА

### Поставляемые материалы

**BD Middlebrook 7H10 Agar** (чашки **Stacker** 90 мм). Свободные от микроорганизмов.

### Непредоставляемые материалы

Дополнительная питательная среда, реагенты и лабораторное оборудование по мере необходимости.

### Типы образцов

Данная среда используется для изоляции и культивирования микобактерий в клинических образцах и может также использоваться для культивирования микобактерий в специальных тестах (например, при тестировании дезинфицирующих средств на эффективность уничтожения микобактерий).

Дополнительные сведения о соответствующих образцах см. в справочных материалах.<sup>6-10</sup>

### Методика тестирования

Методики тестирования рекомендованы Центром по контролю и профилактике заболеваний США (CDC) для первоначальной изоляции из образцов, зараженных микобактериями. Рекомендуется использование раствора N-ацетил-L-цистеина и гидроксида натрия (NALC-NaOH) в качестве мягкого, но эффективного растворяющего и деконтаминирующего вещества. Подробные инструкции по деконтаминации и культивированию см. в справочных материалах.<sup>4-10</sup>

После посева защитите чашки от воздействия света и поместите их средой вниз в систему **BD GasPak** с одноразовыми пакетами **GasPak**, генерирующими диоксид углерода, или другую подходящую систему, обеспечивающую поддержание аэробной атмосферы, обогащенной диоксидом углерода. Выдерживайте при температуре  $35 \pm 2$  °C. Не высушивайте среды во время инкубации.

Примечание. Культуры с участков кожи и мягкой ткани, предположительно зараженных *M. marinum*, *M. ulcerans*, *M. haemophilum*, *M. chelonae* или другими видами бактерий с более низким оптимальным уровнем температуры, должны быть выдержаны при температуре от 25 до 33 °C. Инкубируйте дубликат культуры при температуре 35 – 36 °C.<sup>5,9</sup>

## Результаты

Чашки можно считать в течение 5 – 7 дней после посева и после этого раз в неделю в течение 8 недель. Подробную информацию о морфологии и пигментации колоний см. в справочных материалах.<sup>6–10</sup>

Для считывания чашек с помощью препаровальной лупы переверните их. Считывайте результаты с увеличением в 10 – 60 раз в проходящем свете. Выполните быстрое сканирование на наличие колоний с увеличением в 10 – 20 раз. Более значительное увеличение (в 30 – 60 раз) используется для исследования морфологии колонии, например колоний в виде змеевидных жгутов.

Запишите следующие результаты наблюдений:<sup>5,6</sup>

1. Число дней, необходимое для развития колонии до видимых размеров.

2. Число колоний:

отсутствие колоний = отрицательный результат

менее 50 колоний = фактическое число колоний

50 – 100 колоний = 1+

100 – 200 колоний = 2+

почти сливающийся рост (200 – 500 колоний) = 3+

сливающийся рост (более 500 колоний) = 4+

3. Производство пигмента:

белый, кремовый или темно-желтый = нехромогенный (НХ)

лимонный, желтый, оранжевый, красный = хромогенный (Х)

Окрашивание мазков показывает кислотоустойчивые бациллы, которые указываются только как «кислотоустойчивые бациллы», пока не будут выполнены окончательные тесты. Для получения информации о дополнительных дифференциальных тестах и процедурах для полной идентификации изолируемых микроорганизмов см. соответствующие справочные материалы.<sup>4–10</sup>

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ

Агар **BD Middlebrook 7H10 Agar** является одной из стандартных сред агара для изоляции и культивирования микобактерий в клинических образцах.<sup>4,6,7–11</sup>

Поскольку данная среда является только частично селективной, бактерии, не являющиеся микобактериями, могут размножаться, если образцы предварительно не обработаны для деконтаминации.<sup>6,7,9,10</sup>

Культуры с отрицательным результатом не препятствуют активному инфицированию микобактериями. Целесообразно засеивать несколько сред с различной рецептурой (твердых и жидких).<sup>6–10</sup>

## СПРАВОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

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, W.E. 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. Kent, P.T., and G.P. Kubica. 1985. Public health mycobacteriology: a guide for the level III laboratory. USDHHS. Centers for Disease Control, Atlanta.
6. Sommers, H.M., and J.K. McClatchy. 1983. Cumitech 16, Laboratory diagnosis of the mycobacterioses. Coordinating ed., J.A. Morello. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. K uchler, R., et al. 1998. Tuberkulose - Mycobacteriose. *In*: Mauch, H., R. L uttiken, and S. Gatermann (ed.). MiQ - Qualit tsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik, vol. 5. Urban & Fischer, Munich, Germany.
8. Baron, E.J., L.R. Peterson, and S.M. Finegold. 1994. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis.
9. Pfyffer, G.E., B.A. Brown-Elliott, and R.J. Wallace, Jr. 2003. *Mycobacterium*: general characteristics, isolation, and staining procedures. *In*: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenenbaum (ed.). Manual of clinical microbiology, 8<sup>th</sup> ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
10. DIN 58943. 1996. Diagnosis of tuberculosis. Part 3: Detection of mycobacteria by culture methods. Beuth Verlag, Berlin.
11. Vincent, V., B.A. Brown-Elliott, K.C. Jost, Jr., and R.J. Wallace, Jr. 2003. *Mycobacterium*: phenotypic and genotypic identification. *In*: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenenbaum (ed.). Manual of clinical microbiology, 8<sup>th</sup> ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

## УПАКОВКА И НАЛИЧИЕ

### BD Middlebrook 7H10 Agar

№ по каталогу 254520      Готовая к использованию среда в чашках; 20 чашек

№ по каталогу 254521      Готовая к использованию среда в чашках; 120 чашек

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Для получения дополнительной информации обратитесь к местному представителю компании 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/>

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2012 BD