

BD Middlebrook 7H10 Agar**KULLANIM AMACI**

BD Middlebrook 7H10 Agar mikobakterilerin izolasyonu ve kùltivasyonu için kullanılır.

PROSEDÜR İLKELERİ VE AÇIKLAMASI

Mikrobiyolojik yöntem.

Bu yüzyılda, mikobakterilerin kùltivasyonu için birçok kùltür besiyeri tasarlanmıştır. İlk tasarlananlar yumurta bazlı formùlasyonlardır ve Löwenstein-Jensen Medium ve Petragnani Medium'u içermektedir. Dubos ve Middlebrook, tüberkùl basilinin gelişmesine yardım etme ve organizmaları çeşitli zehirli ajanlara karşı korumada anahtar bileşenler olan oleik asit ve albümin içeren bazı formùlasyonların geliştirilmesine aracı olmuştur.¹ Sonrasında, Middlebrook ve Cohn, oleik asit-albümin agar formùlasyonunu geliştirmiş ve 7H10 olarak tanımlanan besiyeri üzerinde *Mycobacterium* türlerinin daha bol ve hızlı gelişimini elde etmiştir.^{2,3} 7H10 besiyerinin mikobakterilerin kùltivasyonu için yaygın olarak kullanılan yumurta bazlı besiyerinden daha az kontaminant içirme eğilimde olduğu bildirilmiştir.⁴

BD Middlebrook 7H10 Agar'da, çok çeşitli inorganik tuzlar mikobakterilerin gelişimi için gerekli maddeleri sağlar. Sodyum sitrat, sitrik aside çevrildiğinde, çözeltideki belirli inorganik katyonları tutma görevini üstlenir. Gliserol bol karbon ve enerji kaynağıdır. Diğer uzun zincirli yağ asitlerinin yanı sıra oleik asit, tüberkùl basili ile kullanılabilir ve mikobakterilerin metabolizmasında önemli bir rol oynar. Katalaz, besiyerinde bulunma ihtimali olan zehirli peroksitleri parçalar. Albüminin birincil etkisi zehirli ajanlara karşı tüberkùl basilinin korunmasıdır ve bu sebeple, birincil izolasyonda bunların geri kazanımını artırır. Kontamine edici bakterilerin kısmi inhibisyonu, malakit yeşili boya varlığı ile sağlanır.

REAKTİFLER**BD Middlebrook 7H10 Agar**

1 Litre Saf Su için Formül*

Magnezyum Sülfat	0,025 g	Bovin Albümin V	5,0 g
Ferrik Amonyum Sitrat	0,04	Katalaz	0,004
Sodyum Sitrat	0,4	Piridoksin	0,001
Amonyum Sülfat	0,5	Çinko Sülfat	0,001
Monosodyum Glutamat	0,5	Bakır Sülfat	0,001
Disodyum Fosfat	1,5	Biyotin	0,0005
Monopotasyum Fosfat	1,5	Kalsiyum Klorür	0,0005
Agar	17,0	Malakit Yeşili	0,00025
Sodyum Klorür	0,85	Gliserol	5,0
Glikoz	2,0	Oleik Asit	0,05 ml

pH 6,6 ± 0,2

*Performans kriterlerini karşılamak üzere gereken şekilde ayarlanmış ve/veya desteklenmiştir.

ÖNLEMLER

IVD . Yalnızca profesyonel kullanım içindir. ⓧ

Mikrobiyal kontaminasyon belirtileri, renk değişimi, kuruma, çatlama veya diğer bozulma belirtileri görülen plakları kullanmayın.

Aseptik kullanım prosedürleri, biyolojik tehlikeler ve kullanılmış ürünün atılmasıyla ilgili olarak

GENEL KULLANIM TALİMATLARI belgesine bakın.

Mikobakteri içeren laboratuvar prosedürleri, biyolojik tehlikeleri en aza indirmek için özel ekipman ve teknikler gerektirir.⁵⁻⁷ Örneklerin ve kùltürlerin işlenmesi için Biyolojik Güvenlik Düzeyi 3 gereklidir.

SAKLAMA VE RAF ÖMRÜ

Alındıktan sonra plakları kullanana kadar orijinal kaplı ambalajında karanlıkta 2 ila 8 °C'de saklayın. Dondurmaktan ve aşırı ısıtmaktan kaçının. Plaklar son kullanma tarihine kadar (ambalaj etiketine bakın) ve önerilen inkübasyon sürelerinde inkübe edilebilir. 10 plaklık açılmış yığınardan alınan plaklar temiz bir alanda, 2 ila 8 °C'de saklandığında bir hafta kullanılabilir.

KULLANICI TARAFINDAN KALİTE KONTROLÜ

Temsili örnekleri aşağıdaki suşlar ile inoküle edin (detaylar için, bkz. **GENEL KULLANIM TALİMATLARI** belgesi). Plakları 35 +/- 2 °C'de aerobik olarak veya karbon dioksit ile zenginleştirilmiş bir aerobik atmosferde inkübe edin.

Suş	İnkübasyon	Sonuç
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Ra ATCC 25177	2 ila 3 hafta	İyi ila mükemmel gelişim
<i>Mycobacterium fortuitum</i> DSM 46621	2 ila 3 hafta	İyi ila mükemmel gelişim
<i>Mycobacterium smegmatis</i> DSM 43061	2 ila 5 gün	İyi ila mükemmel gelişim
<i>Mycobacterium terrae</i> ATCC 15755	2 ila 3 hafta	Orta ila mükemmel gelişim
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	2 ila 5 gün	İnhibe edilmiş
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	2 ila 5 gün	İnhibe edilmiş
İnoküle edilmemiş	Kehribar, çok hafif yeşilimsi ton	

PROSEDÜR

Sağlanan malzemeler

BD Middlebrook 7H10 Agar (90 mm **Stacker** plaklar). Mikrobiyolojik açıdan kontrol edilmiştir.

Sağlanmayan Malzemeler

Yardımcı kültür ortamı, reaktifler ve gerekli laboratuvar ekipmanı.

Örnek Türleri

Bu besiyeri klinik örneklerden mikobakterilerin izolasyonu ve kültürasyonu için kullanılır ve mikobakterilerin özel testlerde (örn., dezenfektanların mikobakterilere karşı test edilmesi) kültürasyonu için de kullanılabilir.

Uygun örneklerle ilgili ayrıntılar için referanslara bakın.⁶⁻¹⁰

Test Prosedürü

Test prosedürleri, mikobakteri içeren örneklerden birincil izolasyon için Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri (CDC) tarafından önerilenlerdir. N-asetil-L-sistein-sodyum hidroksit (NALC-NaOH) çözeltisi, hafif fakat etkili bir sindirim ve dekontaminasyon ajanı olarak tavsiye edilmektedir. Dekontaminasyon ve kültürasyon yöntemleri ile ilgili ayrıntılı talimatlar için referanslara bakın.⁴⁻¹⁰

İnokülasyonu takiben plakları ışık almayan yerde bekletin, besiyeri bulunan taraf aşağıda olacak şekilde **GasPak** tek kullanımlık karbon dioksit oluşturunca zarfı ile çalıştırılan bir **GasPak** CO2 kavanozuna veya karbon dioksit ile zenginleştirilmiş aerobik bir atmosfer sağlayan uygun diğer bir sisteme yerleştirin. 35 ± 2 °C'de inkübe edin. İnkübasyon esnasında besi yerini kurutmaktan kaçının.

Not: Daha düşük bir sıcaklık optimumuna sahip *M. marinum*, *M. ulcerans*, *M. haemophilum*, *M. chelonae*, veya diğer türleri içerdiğinden şüphe edilen cilt ve yumuşak doku lezyonlarından alınan kültürler 25 ila 33 °C'de inkübe edilmelidir. Kopya kültürü 35 ila 37 °C'de inkübe edin.^{5,9}

Sonuçlar

Plaklar inokülasyondan sonra 5 ila 7 gün içerisinde ve sonrasında 8 haftaya kadar haftada bir kez okunabilir. Koloni morfolojisi ve pigmentasyonu hakkında detaylı bilgi için, referanslara başvurun.⁶⁻¹⁰

Plakların okunması için, plakları bir diseksiyon mikroskobu zemininde ters çevirin. İletilen ışık ile 10 - 60x büyütmede okuma yapın. Kolonilerin varlığı açısından 10 - 20x büyütmede hızla tarama yapın. Koloni morfolojisini yani, serpentin lifsi kolonilerini gözlemlenmede daha yüksek büyütme (30 - 60x) faydalıdır.

Aşağıdaki gözlemleri kaydedin: ^{5,6}

1. Kolonilerin makroskopik olarak görünür hale gelmesi için gerekli gün sayısı.

2. Koloni sayısı:

Koloni yok = Negatif

50'den az koloni = Gerçek sayımı kaydedin

50-100 koloni = 1+

100-200 koloni = 2+

Neredeyse birleşik (200 - 500) = 3+

Birleşik (500'den fazla) = 4+

3. Pigment üretimi

Beyaz, krem veya deri rengi = Kromojenik olmayan (NC)

Limon, sarı, turuncu, kırmızı = Kromojenik (Ch)

Boyanmış smear'lar, tanımlayıcı testler gerçekleştirilmedikçe yalnızca "aside dirençli basil" olarak bildirilen aside dirençli basil gösterir. İzole edilen organizmalar ile ilgili daha fazla ayırıştırma testi ve tam tanıma prosedürleri hakkında bilgi için uygun referanslara bakın. ⁴⁻¹⁰

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ VE PROSEDÜRÜN KISITLI OLDUĞU ALANLAR

BD Middlebrook 7H10 Agar, klinik örneklerden mikobakterilerin izolasyonu ve kültivasyonuna yönelik standart agar besiyerlerinden biridir. ^{4,6,7-11}

Bu besiyeri yalnızca kısmen seçici olduğundan, örnekler dekontaminasyon için uygun bir şekilde önceden muamele edilmezse mikobakteri dışındaki bakteriler gelişebilir. ^{6,7,9,10}

Negatif kültürler mikobakterilerle aktif enfeksiyonu yok saymaz. İyi bir uygulama için, farklı birkaç besiyeri formülasyonu (katı ve sıvı) inoküle edilmelidir. ⁶⁻¹⁰

REFERANSLAR

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. Küchler, R., et al. 1998. Tuberkulose - Mycobacteriose. In: Mauch, H., R. Lüttiken, and S. Gatermann (ed.). MiQ - Qualitätsstandards 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. Tenen (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th 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. Tenen (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

AMBALAJ/TİCARİ TAKDİM ŞEKLİ

BD Middlebrook 7H10 Agar

Kat. No. 254520

Kullanıma Hazır Plak Besiyeri, cpu 20

Kat. No. 254521

Kullanıma Hazır Plak Besiyeri, cpu 120

EK BİLGİ

Daha fazla bilgi için lütfen yerel BD temsilcinizle temasa geçin.



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