

BD Middlebrook 7H10 Agar

ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ

Το **BD Middlebrook 7H10 Agar** χρησιμοποιείται για την απομόνωση και την καλλιέργεια μυκοβακτηριδίων.

ΑΡΧΕΣ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Μικροβιολογική μέθοδος.

Κατά τη διάρκεια του προηγούμενου αιώνα, έχουν επινοηθεί πολλά υλικά καλλιέργειας για την καλλιέργεια μυκοβακτηριδίων. Τα αρχικά ήταν σκευάσματα με βάση το αυγό και περιελάμβαναν τα υλικά καλλιέργειας Lowenstein-Jensen και Petraghni. Οι Dubos και Middlebrook ήταν καθοριστικοί στην ανάπτυξη διαφόρων σκευασμάτων που περιείχαν ελαϊκό οξύ και αλβουμίνη ως βασικά συστατικά που διευκόλυναν την ανάπτυξη του βακίλλου της φυματίωσης και που προστάτευαν τους μικροοργανισμούς από μια ποικιλία τοξικών παραγόντων.¹ Ακολουθώντας, οι Middlebrook και Cohn βελτίωσαν την παρασκευή του άγαρ ελαϊκού οξέος-αλβουμίνης και επέτυχαν ταχύτερη και πιο εκτεταμένη ανάπτυξη του είδους *Mycobacterium* στο υλικό καλλιέργειάς τους που 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 χρησιμοποιούνται συνήθως για την καλλιέργεια των μυκοβακτηριδίων.⁴

Στο **BD Middlebrook 7H10 Agar** μια ποικιλία ανόργανων αλάτων παρέχει 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 τους βακίλλους της φυματίωσης και διαδραματίζουν ένα σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό των μυκοβακτηριδίων. Η καταλάση καταστρέφει τα τοξικά υπεροξειδία που ενδέχεται να υπάρχουν στο υλικό καλλιέργειας. Η πρωτογενής επίδραση της αλβουμίνης είναι η προστασία των βακίλλων της φυματίωσης από τοξικούς παράγοντες και, επομένως, ενισχύει την ανάκτησή τους σε πρωτογενή απομόνωση. Μερική αναστολή των μολυσματικών βακτηριδίων επιτυγχάνεται με την παρουσία της χρωστικής πράσινου του μαλαχίτη.

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

BD Middlebrook 7H10 Agar

Σύνθεση* ανά λίτρο κεκαθαρμένου νερού

Θειικό μαγνήσιο	0,025 g	Βόεια αλβουμίνη V	5,0 g
Κιτρικό σιδηρο(III)αμμώνιο	0,04	Καταλάση	0,004
Κιτρικό νάτριο	0,4	Πυριδοξίνη	0,001
Θειικό αμμώνιο	0,5	Θειικός ψευδάργυρος	0,001
Γλουταμικό μονονάτριο	0,5	Θειικός χαλκός	0,001
Φωσφορικό δινάτριο	1,5	Βιοτίνη	0,0005
Φωσφορικό μονοκάλιο	1,5	Χλωριούχο ασβέστιο	0,0005
Άγαρ	17,0	Πράσινο του μαλαχίτη	0,00025
Χλωριούχο νάτριο	0,85	Γλυκερόλη	5,0
Γλυκόζη	2,0	Ελαϊκό οξύ	0,05 ml

pH 6,6 ± 0,2

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

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

IVD . Για επαγγελματική χρήση μόνον. ☒

Μη χρησιμοποιείτε τις πλάκες εάν παρουσιάζουν ενδείξεις μικροβιακής μόλυνσης, αποχρωματισμό, ξηρότητα, ρωγμές ή άλλα σημεία αλλοίωσης.

Συμβουλευτείτε το έγγραφο **ΓΕΝΙΚΕΣ ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ** σχετικά με τις ασηπτικές διαδικασίες χειρισμού, τους βιολογικούς κινδύνους και την απόρριψη του χρησιμοποιημένου προϊόντος.

Οι εργαστηριακές διαδικασίες που ενέχουν μυκοβακτηρίδια απαιτούν ειδικό εξοπλισμό και τεχνικές για την ελαχιστοποίηση των βιολογικών κινδύνων.⁵⁻⁷ Για το χειρισμό των δειγμάτων και των καλλιέργειών, απαιτείται επίπεδο βιοασφάλειας 3.

ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΖΩΗΣ

Κατά την παραλαβή, φυλάσσετε τα τρυβλία στο σκοτάδι στους 2 έως 8°C, στην αρχική συσκευασία τους έως τη στιγμή της χρήσης τους. Αποφεύγετε την κατάψυξη και την υπερβολική θέρμανση. Τα τρυβλία είναι δυνατό να ενοφθαλμιστούν έως την ημερομηνία λήξης (δείτε την ετικέτα της συσκευασίας) και να επωαστούν στους συνιστώμενους χρόνους επώασης. Είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν τρυβλία από ανοιγμένες στοίβες 5 ή 10 τρυβλίων επί μία εβδομάδα, εφόσον φυλάσσονται σε καθαρό χώρο στους 2 έως 8°C.

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΧΡΗΣΤΗ

Ενοφθαλμίστε αντιπροσωπευτικά δείγματα με τα ακόλουθα στελέχη (για λεπτομέρειες, δείτε το έγγραφο **ΓΕΝΙΚΕΣ ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ**). Επωάστε στους 35 ± 2 °C σε αερόβιες συνθήκες ή σε αερόβια ατμόσφαιρα συμπληρωμένη με διοξείδιο του άνθρακα.

Στέλεχος	Επώαση	Αποτέλεσμα
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Ra ATCC 25177	2 έως 3 εβδομάδες	Ανάπτυξη καλή έως εξαιρετική
<i>Mycobacterium fortuitum</i> DSM 46621	2 έως 3 εβδομάδες	Ανάπτυξη καλή έως εξαιρετική
<i>Mycobacterium smegmatis</i> DSM 43061	2 έως 5 ημέρες	Ανάπτυξη καλή έως εξαιρετική
<i>Mycobacterium terrae</i> ATCC 15755	2 έως 3 εβδομάδες	Ανάπτυξη αρκετά καλή έως εξαιρετική
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	2 έως 5 ημέρες	Αναστολή
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	2 έως 5 ημέρες	Αναστολή
Μη ενοφθαλμισμένο	Πορτοκαλί, πολύ ελαφριά πρασινωπή απόχρωση	

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Παρεχόμενα υλικά

BD Middlebrook 7H10 Agar (πλάκες **Stacker** 90 mm). Μικροβιολογικά ελεγμένο.

Υλικά που δεν παρέχονται

Βοηθητικά υλικά καλλιέργειας, αντιδραστήρια και εργαστηριακός εξοπλισμός, όπως απαιτείται.

Τύποι δειγμάτων

Αυτό το υλικό καλλιέργειας χρησιμοποιείται για την απομόνωση και την καλλιέργεια μυκοβακτηριδίων από κλινικά δείγματα και είναι δυνατόν επίσης να χρησιμοποιηθεί για την καλλιέργεια μυκοβακτηριδίων σε ειδικές εξετάσεις (π.χ. για εξέταση απολυμαντικών ενάντια σε μυκοβακτηρίδια).

Για λεπτομέρειες σχετικά με κατάλληλα δείγματα, συμβουλευτείτε τις αναφορές.⁶⁻¹⁰

Διαδικασία της εξέτασης

Οι διαδικασίες εξέτασης είναι εκείνες που συνιστώνται από τα Centers for Disease Control and Prevention (CDC) για πρωτογενή απομόνωση από δείγματα που περιέχουν μυκοβακτηρίδια.

Το διάλυμα N-ακετυλ-L-κυστεΐνης-υδροξειδίου του νατρίου (NALC-NaOH) συνιστάται ως ήπιος αλλά αποτελεσματικός παράγοντας πέψης και απολύμανσης. Για λεπτομερείς οδηγίες σχετικά με τις μεθόδους απολύμανσης και καλλιέργειας, συμβουλευτείτε τις αναφορές.⁴⁻¹⁰

Μετά τον ενοφθαλμισμό, διατηρείτε τις πλάκες προστατευμένες από το φως και τοποθετήστε τις, με το υλικό καλλιέργειας ανάποδα, μέσα σε ένα βάζο **BD GasPak** που διαθέτει έναν αναλώσιμο φάκελο σχηματισμού διοξειδίου του άνθρακα **GasPak** ή άλλο κατάλληλο σύστημα σχηματισμού αερόβιας ατμόσφαιρας εμπλουτισμένης με διοξείδιο του άνθρακα. Επωάστε στους $35 \pm 2^\circ\text{C}$. Αποφεύγετε την αποξήρανση του υλικού καλλιέργειας κατά τη διάρκεια της επώασης.

Σημείωση: Καλλιέργειες από βλάβες δέρματος και μαλακών μορίων για τις οποίες υπάρχει υποψία ότι περιέχουν *M. marinum*, *M. ulcerans*, *M. haemophilum*, *M. chelonae* ή άλλα είδη με μικρότερο βέλτιστο θερμοκρασίας πρέπει να επωάζονται στους 25 έως 33°C . Επωάστε μια καλλιέργεια εις διπλούν στους 35 έως 37°C .^{5,9}

Αποτελέσματα

Η ανάγνωση των πλακών είναι δυνατό να γίνεται εντός 5 έως 7 ημερών μετά τον ενοφθαλμισμό και μία φορά την εβδομάδα ακολούθως, επί έως 8 εβδομάδες. Για λεπτομέρειες σχετικά με τη μορφολογία και τη χρώση των αποικιών, συμβουλευτείτε τις αναφορές.⁶⁻¹⁰

Για ανάγνωση των πλακών, αναστρέψτε τις πλάκες πάνω στην αντικειμενοφόρο πλάκα ενός μικροσκοπίου ανατομής. Διαβάστε σε μεγέθυνση 10-60x με εκπεμπόμενο φως. Παρατηρήστε ταχέως σε μεγέθυνση 10-20x για την παρουσία αποικιών. Μπορείτε να διευκολυνθείτε με υψηλότερη μεγέθυνση (30-60x) στην παρατήρηση της μορφολογίας των αποικιών, όπως, π.χ. ελικοειδείς αποικίες.

Καταγράψτε τις ακόλουθες παρατηρήσεις:^{5,6}

1. Αριθμός ημερών που απαιτήθηκαν για να καταστούν οι αποικίες μακροσκοπικά ορατές.

2. Αριθμός αποικιών:

Απουσία αποικιών = Αρνητικό

Λιγότερες από 50 αποικίες = Καταγράψτε τον πραγματικό αριθμό

50-100 αποικίες = 1+

100-200 αποικίες = 2+

Σχεδόν συρρέουσες (200-500) = 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 εμφανίζουν τους οξεάντοχους βακίλλους, οι οποίοι αναφέρονται μόνον ως "οξεάντοχοι βάκιλλοι", εκτός εάν πραγματοποιηθούν οριστικές εξετάσεις.

Συμβουλευτείτε τις κατάλληλες αναφορές για πληροφορίες σχετικά με περαιτέρω εξετάσεις διαφοροποίησης και διαδικασίες για την πλήρη ταυτοποίηση των μικροοργανισμών που έχουν απομονωθεί.⁴⁻¹⁰

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΚΑΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Το **BD Middlebrook 7H10 Agar** είναι ένα από τα πρότυπα υλικά άγαρ για την απομόνωση και καλλιέργεια μυκοβακτηριδίων από κλινικά δείγματα.^{4,6,7-11}

Επειδή αυτό το υλικό καλλιέργειας είναι μερικώς μόνον εκλεκτικό, εάν τα δείγματα δεν υποβληθούν σε κατάλληλη προεπεξεργασία για απολύμανση, ενδέχεται να αναπτυχθούν βακτηρίδια διαφορετικά από τα μυκοβακτηρίδια.^{6,7,9,10}

Οι αρνητικές καλλιέργειες δεν αποκλείουν ενεργή λοίμωξη από μυκοβακτηρίδια. Για λόγους ορθής πρακτικής, θα πρέπει να ενοφθαλμίζονται αρκετά διαφορετικά σκευάσματα υλικών καλλιέργειας (στερεά και υγρά).⁶⁻¹⁰

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, 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  chler, R., et al. 1998. Tuberkulose - Mycobacteriose. In: Mauch, H., R. L  ttiken, 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. 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.

ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ/ΔΙΑΘΕΣΙΜΟΤΗΤΑ

BD Middlebrook 7H10 Agar

Αρ. κατ. 254520 Έτοιμα προς χρ  ση υλικά καλλι  ργειας σε πλάκες, 20 πλάκες
 Αρ. κατ. 254521 Έτοιμα προς χρ  ση υλικά καλλι  ργειας σε πλάκες, 120 πλάκες

ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Για περισσότερες πληροφορίες παρακαλούμε επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της 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 the property of Becton, Dickinson and Company.    2012 BD