



BBL Lowenstein-Jensen Medium
BBL Lowenstein-Jensen Medium with 5 % Sodium Chloride



L007464 • 11 patikr. • 2015 m. spalio mėn.

KOKYBĖS KONTROLĖS PROCEDŪROS (Neprivaloma)

I. ĮVADAS

Lowenstein-Jensen terpė naudojama mikobakterijoms išskirti ir kultivuoti. Terpė giliuosiuose mėgintuvėliuose naudojama pusiau kiekybiniais katalazės tyrimams atlikti ir padeda klasifikuoti mikobakterijas.

II. VEIKIMO TYRIMO PROCEDŪRA

A. Inokulianto paruošimo procedūra

1. Užsėkite Lowenstein-Jensen terpės nuožulniuotus agarus atitinkamų mikobakterijų padermių standartinėmis kultūromis, naudodami sterilias užsėjimo lazdeles.
2. Inkubuokite mėgintuvėlius su ne iki galo atsuktais dangteliais aerobinėje atmosferoje, papildytoje anglies dioksidu, $35 \pm 2^\circ\text{C}$ temperatūroje, kol bus pasiektas didelis augimas (paprastai per 2 – 3 savaites).
3. Surinkite išaugusias bakterijas sterilia nusmailinta aplikatoriaus lazdele atsargiai pašalindami ląsteles nuo terpės paviršiaus ir stengdamiesi neįterpti kultūros terpės į išaugusias bakterijas.
 - a. Dirbdami su *Mycobacterium tuberculosis* ATCC 25177:
 - (1) Išaugusias bakterijas perkelkite į 5,0 mL „Middlebrook“ 7H9 buljoną su gliceroliu, esantį steriliame stikliniame mėgintuvėlyje su užsukamu dangteliu, kuriame yra sterilių stiklinių rutuliukų.
 - (2) Gerai suplakite (kelias minutes), kol suspensijoje nebebus didelių sankaupų.
 - (3) Palyginkite šią suspensiją su McFarlando nefelometro standartu Nr. 1. Suspensija turi būti drumstesnė už standartą.
 - (4) Įdėkite mėgintuvėlį 2–3 h į dėklą kambario temperatūroje, kad didelės dalelės nusėstų ant dugno.
 - (5) Perkelkite paviršinį skystį į sterilių konteinerį.
 - (6) Lėtai pridėdami sterilaus „Middlebrook“ 7H9 buljono su gliceroliu, koreguokite suspensijos drumstumą iki McFarlando standarto Nr. 1. Gerai suplakite.
 - (7) Prieš naudodami atskieskite iki 10^5 CFU/mL. Gerai išmaišykite ir ruošeliais užsėkite tyrimo terpę naudodami 0,01 mL kalibruotą kilpelę.
 - b. Tirdami kitas mikobakterijų padermes:
 - (1) Perkelkite išaugusias bakterijas į sterilių 50 mL centrifugavimo mėgintuvėlį su užsukamu dangteliu, kuriame yra 8 – 12 sterilių stiklinių rutuliukų (2 mm skersmens) ir 5 mL taip paruošto mikobakterijų skiediklio:
 - Sumaišykite toliau nurodytus ingredientus 1 L kolboje ir sureguliuokite pH iki 6,7 – 7,0 naudodami 1N natrio hidroksido
Jaučio albuminas (be riebalų rūgščių) 1,0 g
Polisorbatas 80 0,1 mL
Išgrynintas vanduo 500 mL
 - Sterilizuokite atlikdami membraninį filtravimą (0,2 µ filtrą)
 - Steriliomis sąlygomis dozuokite po 5,5 mL į sterilius mėgintuvėlius su užsukamais dangteliais.
 - (2) Emulsuokite išaugusias mikobakterijas ant centrifugavimo mėgintuvėlio su užsukamu dangteliu vidinės sienelės, naudodami aplikatoriaus lazdelę. Sumaišykite išaugusias bakterijas su skiedikliu.
 - (3) Užsukite mėgintuvėlio dangtelį ir plakite maždaug 10 min, kol išaugusios bakterijos bus gerai suspenduotos ir nebeliks didelių sankaupų.
 - (4) Pridėkite 15 mL sterilaus mikobakterijų skiediklio ir kruopščiai išmaišykite.
 - (5) Palyginkite šią suspensiją su McFarlando nefelometro standartu Nr. 1. Suspensija turi būti drumstesnė už standartą.
 - (6) Įdėkite mėgintuvėlį 2–3 h į dėklą kambario temperatūroje, kad didelės dalelės nusėstų ant dugno.
 - (7) Išsiurbkite paviršinį skystį ir perkelkite jį į sterilių konteinerį. Suspensija turi būti drumstesnė už McFarlando standartą Nr. 1 ir joje neturi būti didelių dalelių. Jei vis tiek liko didelių dalelių, išmaišykite ir palikite dar 1 h. Perkelkite paviršinį skystį į sterilių konteinerį.
 - (8) Lėtai pridėdami sterilaus mikobakterijų skiediklio koreguokite suspensijos drumstumą iki McFarlando standarto Nr. 1. Gerai suplakite.
 - (9) Nedideliais kiekiais dozuokite suspensiją į šaldiklio mėgintuvėlius, ant kurių užklijuota etiketė su organizmo identifikavimo informacija ir paruošimo data.
 - (10) Užšaldykite suspensijas įdėdami mėgintuvėlius į žemos temperatūros šaldiklį, kuriame temperatūra yra -60°C . Mėgintuvėlius galima laikyti iki 6 mėnesių.
 - (11) Norėdami naudoti, išimkite užšaldytą mėgintuvėlį iš šaldiklio ir greitai atšildykite jo turinį įdėdami mėgintuvėlį į $30 - 35^\circ\text{C}$ temperatūros vandens vonelę. Prieš naudodami atskieskite iki 10^5 CFU/mL. Gerai išmaišykite ir ruošeliais užsėkite tyrimo terpę naudodami 0,01 mL kalibruotą kilpelę.

B. Terpės tyrimo procedūros

Lowenstein–Jensen Medium Deeps (terpės gilieji mėgintuvėliai)

1. Sterilia vienkartinė 0,01 mL užsėjimo kilpele užsėkite galinius paviršius naudodami prieš tai nurodytu būdu paruoštas kultūras.
2. Inkubuokite mėgintuvėlius su ne iki galo atsuktais dangteliais 35 ± 2 °C temperatūroje aerobinėje atmosferoje, papildytoje anglies dioksidu.
3. Po 14 inkubacijos dienų į kiekvieną kultūrą pridėkite 1,0 mL polisorbato 80 peroksido mišinio, paruošto, kaip nurodyta toliau:
 - a. 30 % vandenilio peroksido. Laikykite šaldytuve.
 - b. 10% polisorbato 80, paruošto, kaip nurodyta toliau:
 - (1) Sumaišykite 10 mL polisorbato 80 su 90 mL išgryninto vandens.
 - (2) Apdorokite autoklavu 10 min 121 °C temperatūroje.
 - (3) Laikykite šaldytuve.
 - c. Iš karto, prieš atlikdami tyrimą, sumaišykite lygias dviejų tirpalų dalis.
4. Laikykite kultūras vertikaliaje padėtyje 5 min kambario temperatūroje.
5. Išmatuokite (mm) burbuliukų sluoksnio, esančio virš terpės paviršiaus, aukštį.
6. Laukiami rezultatai

Burbuliukų sluoksnis didesnis nei 45 mm.

* *Mycobacterium kansasii*, I grupė

ATCC 12478

Mycobacterium scrofulaceum, II grupė

ATCC 19981

Mycobacterium fortuitum, IV grupė

ATCC 6841

Burbuliukų sluoksnis mažesnis nei 45 mm.

* *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra

ATCC 25177

Mycobacterium intracellulare, III grupė

ATCC 13950

* Rekomenduojama mikroorganizmų padermė naudotojo atliekamai kokybės kontrolei.

Lowenstein–Jensen Medium Slants (terpės nuožulnieji agarai) ir buteliukai

1. Užsėkite tipinius mėginius toliau išvardytomis kultūromis.
 - a. Steriliomis vienkartinėmis 0,01 mL kalibruotomis kilpelėmis užsėkite nuožulnijuosius agarus naudodami mikobakterijų kultūras, paruoštas, kaip nurodyta anksčiau.
 - b. Inkubuokite kontenerius su ne iki galo atsuktais dangteliais 35 ± 2 °C temperatūroje aerobinėje atmosferoje, papildytoje anglies dioksidu.
2. Po 7, 14 ir 21 dienos ištirkite mėgintuvėlius ar buteliukus ir nustatykite priaugimą, selektyvumą ir pigmentaciją.
3. Laukiami rezultatai

- a. Naudojant Lowensteino-Jenseno terpę

CLSI mikroorganizmai

* *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra

ATCC

Išskyrimas

* *Mycobacterium kansasii*, I grupė

12478

Augimas

* *Mycobacterium scrofulaceum*, II grupė

19981

Augimas

* *Mycobacterium intracellulare*, III grupė

13950

Augimas

* *Mycobacterium fortuitum*, IV grupė

6841

Augimas

- b. Naudojant Lowensteino-Jenseno terpę su 5 % natrio chlorido

Organizmai

* *Mycobacterium fortuitum*

ATCC

Išskyrimas

* *Mycobacterium kansasii*

6841

Augimas

12478

Neauga

* Rekomenduojama mikroorganizmų padermė naudotojo atliekamai kokybės kontrolei.

III. PAPILDOMA KOKYBĖS KONTROLĖ

1. Ištirkite mėgintuvėlius ar buteliukus, kaip aprašyta skyriuje „Produkto tinkamumas“.
2. Apžiūrėkite tipinius mėgintuvėlius ar buteliukus ir įsitikinkite, kad jų naudoti netrukdo jokie esami fiziniai defektai.
3. pH nustatykite potenciometru kambario temperatūroje, laikydamiesi $7,0 \pm 0,2$ specifikacijos.
4. Inkubuokite neužsėtus tipinius mėgintuvėlius ar buteliukus 20 – 25 °C ir 30 – 35 °C temperatūroje ir po 7 ir 14 dienų ištirkite ieškodami užteršimo mikrobais.

INFORMACIJA APIE PRODUKTĄ

IV. NAUDOJIMO PASKIRTIS

Lowensteino-Jenseno terpė naudojama *Mycobacterium tuberculosis* ir kitoms mikobakterijų rūšims kultivuoti.

V. SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAS

Lowensteinas iš pradžių sukūrė terpę, skirtą mikobakterijoms kultivuoti. Į šią terpę buvo pridėta kongo raudonojo ir malachito žalių, siekiant nustatyti dalinį kitų bakterijų slopinimą.^{1,2} Šiuos dažus panašiai naudojo ir kiti tyrėjai, ypač Sonnenschein³ ir Hohnas.⁴ Jungtinėse Amerikos Valstijose buvo populiari Corperio⁵ ir Petroffo⁶ metilvioletinio terpė ir Petagnani terpė, kurios sudėtyje buvo malachito žalių. Esamoje formulėje, kurią sukūrė Jensenas⁷, yra šiek tiek kitoks citrato ir fosfato kiekis, joje nėra kongo raudonojo, o malachito žalių koncentracija padidinta.

BBL paruošti Lowensteino-Jenseno terpės produktai apima nuožulniusius mėgintuvėlius, bendrai naudojamus kultivuojant *Mycobacterium* rūšis, buteliukus, naudojamus, kai reikia didesnio paviršiaus ploto, ir giliuosius mėgintuvėlius, skirtus pusiau kiekybiniam katalazės tyrimui atlikti. Pastarąją procedūrą, naudingą klasifikuojant bakterijas, sukūrė Wayne'as⁸.

Be to, galima terpę su 5 % natrio chlorido, nes tam tikrų mikobakterijų (pvz., *M. fortuitum* ir *M. chelonae* porūš. *abscessus*) padermės būdingas atsparumas 5 % natrio chlorido.⁹ Greičiausiai augantys mikroorganizmai, lėtai augantys *M. triviale* ir kai kurios *M. flavescens* padermės taip pat auga terpėje, kurios sudėtyje yra NaCl. *M. chelonae* porūš. *chelonae* neaugimas leidžia atskirti jį nuo kitų *M. fortuitum* komplekso narių (pvz., *M. chelonae* porūš. *abscessus*).^{9,10}

VI. PROCEDŪROS PRINCIPAI

Lowensteino-Jenseno terpės pagrindas yra nesudėtingos sudėties, kurią reikia papildyti, norint palaikyti mikobakterijų augimą. Prieš tiršinimo procesą pridėdama glicerolio ir kiaušinių mišinio. Šiose medžiagose yra riebalų rūgščių ir baltymo, reikalingų mikobakterijų metabolizmui. Atliekant sterilizavimą kiaušinio albumino koaguliacija sudaro kietą terpę, naudojamą atliekant sėjimą.

VII. REAGENTAI

Lowensteino-Jenseno terpė

Apytikslė sudėtis* 600 mL išgryninto vandens

Monokalio fosfatas	2,5 g	Bulvių krakmolos	30,0 g
Magnio sulfatas	0,24 g	Malachito žaliasis	0,4 g
Natrio citratas	0,6 g	Glicerolis.....	12,0 mL
L-asparaginas	3,6 g	Visas kiaušinis	1000,0 mL

* Koreguojama ir (arba) papildoma pagal poreikį, kad atitiktų veikimo kriterijus.

Lowensteino-Jenseno terpę su 5 % natrio chlorido sudaro anksčiau išvardyti ingredientai, 600 mL, 80 g natrio chlorido.

Įspėjimai ir atsargumo priemonės: naudoti *in vitro* diagnostikai.

Mėgintuvėlius ir buteliukus su hermetiškais dangteliais reikia atidaryti atsargiai, kad nesusižeistumėte dūžtant stiklui.

Klinikiniuose mėginiuose gali būti patogeninių mikroorganizmų, įskaitant hepatito virusus ir žmogaus imunodeficitą virusą. Dirbant su visais krauju ir kitais kūno skysčiais užkrėstais elementais būtina laikytis „Standartinių atsargumo priemonių“¹¹⁻¹⁴ ir įstaigos rekomendacijų. Panaudotus paruoštus mėgintuvėlius, mėginių indus ir kitas užterštas medžiagas prieš išmetant reikia sterilizuoti autoklavu.

Manipuliuojant aerozolių nesudarančiais klinikiniais mėginiais, pvz., ruošiant rūgščiai atsparių nudažytų bakterijų tepinėlius, būtina taikyti 2 biologinės saugos lygio taisykles ir procedūras, naudoti sulaikymo įrangą ir patalpas. Visi veiksmai, kurių metu susidaro aerozoliai, turi būti atliekami I arba II klasės biologinės saugos spintoje. Atliekant laboratorinius *M. tuberculosis* ir *M. bovis* kultūrų veisimo ir manipuliavimo jomis veiksmus būtina taikyti 3 biologinės saugos lygio taisykles, naudoti sulaikymo įrangą ir patalpas. Atliekant tyrimus su gyvūnais taip pat reikia taikyti specialias procedūras.¹³

Laikymo nurodymai: gavę mėgintuvėlius ir buteliukus, laikykite juos tamsoje, 2 – 8°C temperatūroje. Stenkitės neužšaldyti ir neperkaitinti. Neatidarykite, jei nereikia naudoti. Nelaikykite ilgai šviesoje. Terpę, kuri iki naudojant saugoma pažymėta etiketėmis, galima užsėti iki galiojimo pabaigos datos ir inkubuoti rekomenduojamą inkubavimo laiką. Prieš sėdami palaukite, kol terpė sušils iki kambario temperatūros.

Produkto tinkamumas: nenaudokite mikroorganizmais užterštų, pakitusios spalvos, išdžiūvusių ar kitokių blogos kokybės mėgintuvėlių ir buteliukų.

VIII. MĖGINIO PAĖMIMAS IR APDOROJIMAS

Kultūroms tinkamus mėginius galima apdoroti įvairiomis technikomis. Išsamesnės informacijos ieškokite atitinkamuose dokumentuose.^{15,16} Mėginius reikia imti prieš skiriant antimikrobinių medžiagų. Reikia pasiruošti, kad medžiagą būtų galima greitai nusiųsti į laboratoriją.

IX. PROCEDŪRA

Tiekiamos medžiagos: Lowensteino-Jenseno terpė arba Lowensteino-Jenseno terpė su 5 % natrio chlorido

Būtinės, bet netiekiamos medžiagos: papildoma kultūros terpė, reagentai, kokybės kontrolės organizmai ir kitos reikalingos laboratorinės priemonės.

Tyrimo procedūra: laikykites aseptikos reikalavimų.

Norint atlikti pirminį mikobakterijų išskyrimą iš mėginių rekomenduojama remtis Ligų kontrolės ir prevencijos centrų (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) tyrimų procedūromis.¹⁰ Rekomenduojama naudoti švelnų, tačiau veiksmingą N-acetil-L-cisteino ir natrio hidroksido (NALC-NaOH) tirpalą, kaip ardančią ir nukenksminančią medžiagą. Šie reagentai pateikiami **BBL MycoPrep** Mycobacterial Specimen Digestion/Decontamination Kit (mėginio ardymo / nukenksminimo rinkinyje). Nukenksminimo ir kultūrų auginimo instrukcijų ieškokite atitinkamoje literatūroje.^{10,16-18}

Užsėję saugokite tyrimų indus nuo šviesos ir padėkite į tinkamą sistemą, tiekiančią aerobinę atmosferą, papildytą anglies dioksidu. Inkubuokite užsėtus nuožulniuosius agarus ir buteliukus $35 \pm 2^\circ\text{C}$ temperatūroje.

Padėta ant nuožulniojo agaro arba į buteliuką įdėta terpė turi būti inkubuojama horizontaliai, kol inokuliantas bus absorbuotas. Pirmas tris savaites mėgintuvėlių ir buteliukų užsukamieji dangteliai turi būti nevisiškai užsukti, kad cirkuliuotų augimą skatinantis anglies dioksidas. Vėliau, norėdami išvengti dehidracijos, tvirtiau užsukite dangtelius. Kartą per savaitę trumpam juos šiek tiek atsukite. Jei nėra vietos, pastatykite mėgintuvėlius vertikaliai.

PASTABA. Jei manoma, kad pažeistos odos kultūrose gali būti *M. marinum* arba *M. ulcerans*, norint atlikti pirminį išskyrimą, jos turi būti inkubuojamos $25 - 33^\circ\text{C}$ temperatūroje. Kultūros, tariamai turinčios *M. avium* arba *M. xenopi*, optimaliai auga $40 - 42^\circ\text{C}$ temperatūroje.¹⁰ Pasikartojančią kultūrą inkubuokite $35 - 37^\circ\text{C}$ temperatūroje.

Atliekant pusiau kiekybinį katalazės tyrimą naudojant giliuosius Lowensteino-Jenseno terpės agarus rekomenduojama atlikti šią procedūrą:¹⁰

1. Užsėkite terpės paviršių 0,1 mL 7 dienų buljono kultūra arba pilną kilpelę kiekvieno tyrimo kamieno sparčiai augančio nuožulniojo agaro. Taip pat užsėkite mėgintuvėlius stipria, katalazę sukeliančia kultūra, pvz., *M. kansasii*, ir silpna fermento paderme, pvz., *M. intracellulare*.
2. Inkubuokite nevisiškai užsukę dangtelį $35 \pm 2^\circ\text{C}$ temperatūroje 2 savaites.
3. Paruoškite polisorbato 80 ir peroksido mišinį lygiomis dalimis sumaišę:
 - a. autoklavu sterilizuoto 10 % polisorbato 80 ir distiliuoto vandens tirpalo arba 1 mL sterilaus polisorbato 80 ir 9 mL distiliuoto vandens tirpalo;
 - b. vandenilio peroksido (30 %).
4. Įpilkite 1 mL polisorbato 80 ir peroksido mišinio į kiekvieną kultūrą. Po 5 min registruokite burbuliukų sluoksnio aukštį (mm).

Rekomenduojama atsparumą natrio chloridui tirti taikant tokią procedūrą:^{10,17}

1. Sulyginkite sparčiai augančios subkultūros suspensiją „Middlebrook“ 7H9 buljone su McFarlando drumstumo standartu Nr. 1.
2. Užsėkite 0,1 mL standartizuotos kultūros ant Lowensteino-Jenseno terpės su 5 % natrio chlorido nuožulniojo agaro. Panašiai užsėkite terpės be NaCl nuožulnių agarą kaip augimo kontrolės mėgintuvėlį.
3. Inkubuokite nevisiškai užsukę dangtelius CO_2 papildytoje atmosferoje, iš pradžių savaitę plokščiame dėkle $28 - 30^\circ\text{C}$ temperatūroje, jei norite auginti greitai, arba $35 \pm 2^\circ\text{C}$ temperatūroje, jei norite auginti lėtai.
4. Kiekvieną savaitę tikrinkite augimą. Jei reikia, pakartotinai inkubuokite dar tris savaites.

Naudotojo kokybės kontrolė: žr. „Kokybės kontrolės procedūros“.

Kiekviena terpės partija ištirta naudojant atitinkamus kokybės kontrolės organizmus. Šie tyrimai atitinka gaminio specifikacijas ir CLSI standartus (kai tai taikoma). Kaip visada, kokybės kontrolės tyrimai turi būti atliekami laikantis galiojančių vietos, valstybės, federalinių arba šalies nurodymų, akreditacinių reikalavimų ir (arba) jūsų laboratorijos standartinių kokybės kontrolės procedūrų.

X. REZULTATAI

Pasėjus kultūros turi būti įvertintos po 5 – 7 dienų, o po to ne daugiau kaip 8 savaites kartą per savaitę.

Įrašų pastabos:

1. Dienų skaičius, per kurias kolonijos tampa matomos nenaudojant mikroskopo. Greitai augančios kolonijos subręsta per 7 dienas, lėtai augančioms reikia daugiau nei 7 dienų, kad taptų subrendusia kolonija.
2. Pigmentų gamyba.
Baltas, kreminis arba tamsiai geltonas = ne chromogeninis (NC).
Citrinos spalvos, geltonas, oranžinis, raudonas = chromogeninis (Ch).

Dažytuose tepinėliuose gali būti rūgštims atsparių bacilų, kurios nurodomos tik kaip „rūgštims atsparios bacilos“, nebent atliekami patvirtinamieji tyrimai.

Buteliukai gali būti tikrinami apvertus juos ant tyrimų mikroskopo pagrindo. Įvertinkite, nustatę 10-60x ir naudodami šviesos šaltinį. Norėdami patikrinti, ar nėra kolonijų, greitai nuskaitykite, nustatę 10-20x. Didesnis padidėjimas (30-60x) padeda stebėti kolonijos morfologiją, t. y. vingiuotos struktūros kolonijas.

Atliekant pusiau kiekybinį katalazės tyrimą, didžioji dalis mikobakterijų dalijamos į dvi grupes.^{8,10,16}

1. Burbuliukų sluoksnis didesnis nei 45 mm.
M. chelonae
M. fortuitum
M. gordonae
M. kansasii (kliniškai svarbu)
M. scrofulaceum
2. Burbuliukų sluoksnis mažesnis nei 45 mm.
M. avium
M. bovis
M. gastri
M. haemophilum
M. intracellulare

M. kansasii (kliniškai nesvarbu)
M. malmoense
M. marinum
M. tuberculosis
M. xenopi

Mėgintuvėlyje, kuriame yra terpė su 5 % NaCl, pastebimas augimas arba jo nebuvimas padeda diferencijuoti mikobakterinius mikroorganizmus. Atsparumo druskai tyrimas yra teigiamas, kai kontroliniame mėgintuvėlyje susidaro daugybė kolonijų, o daugiau nei 50 kolonijų auga terpėje, kurioje yra 5 % NaCl.^{10,17} Jei kontrolinėje terpėje kolonijos susidaro, tačiau inkubuojant visas 4 savaites tyrimo terpėje nėra plika akimi matomo augimo, tyrimas yra neigiamas.^{10,16,17}

XI. PROCEDŪROS APRIBOJIMAI

Norint identifikuoti, organizmai turi būti grynoje kultūroje. Norint identifikuoti galutinai, reikia atlikti morfologinius, biocheminius ir (arba) serologinius tyrimus. Išsamios informacijos ir rekomenduojamų procedūrų ieškokite atitinkamose dokumentuose.^{15,16,19}

XII. VEIKIMO CHARAKTERISTIKOS

Lowenstein-Jensen Medium (terpė)

Palaci ir kt. atliekamo tyrimo metu 85 kvėpavimo sistemos mėginiai buvo užsėti ant Lowensteino-Jenseno (LJ) ir **BBL MGIT** nuožulniųjų agarų laikantis standartinių procedūrų. Nustatyta, kad dvidešimt penki (25) mėginiai buvo teigiami dėl *M. tuberculosis*. Ir LJ, ir **MGIT** kultūrų jautrumas buvo 96,1 % (25 iš 26 teigiamų kultūrų). Nors aptikimo laikas **MGIT** mėgintuvėliuose buvo gerokai trumpesnis, tarp dviejų metodų nepastebėta jokio žymaus *M. tuberculosis* aptikimo jautrumo skirtumo.²⁰

Lowensteino-Jenseno Medium Deep (terpės gilieji mėgintuvėliai)

Prieš išleidžiant į rinką, visos Lowensteino-Jenseno terpės gliučių mėgintuvėlių partijos patikrinamos pagal specifines gaminio charakteristikas. Mėginiai tikrinami naudojant *M. fortuitum* ATCC 6841, *M. intracellulare* ATCC 13950, *M. kansasii* ATCC 12478, *M. scrofulaceum* ATCC 19981 ir *M. tuberculosis* ATCC 25177, užsėjant jas 0,2 mL „Middlebrook“ 7H9 buljono suspensijomis. Mėgintuvėliai inkubuojami nevisiškai užsukus dangtelius iki 3 savaičių 35 – 37 °C temperatūroje. Paruošiamas polisorbato 80 ir peroksido mišinys ir į kiekvieną kultūrą įpilama po 1 mL. Po 5 min registruojamas burbuliukų sluoksnio aukštis (mm). Teigiamą katalazės reakciją rodo aukštesnis nei 45 mm burbuliukų sluoksnis. Neigiamą reakciją rodo žemesnis nei 45 mm burbuliukų sluoksnis. Teigiamą katalazės reakciją stebima esant *M. fortuitum*, *M. kansasii* ir *M. scrofulaceum*. Neigiamą katalazės reakciją stebima esant *M. intracellulare* ir *M. tuberculosis*.

Lowensteino-Jenseno Medium with 5% Sodium Chloride (terpė su 5 % natrio chlorido)

Prieš išleidžiant į rinką, visos Lowensteino-Jenseno terpės su 5 % natrio chlorido partijos patikrinamos pagal specifines gaminio charakteristikas. Norint gauti 10³ – 10⁴ CFU, mėginiai tiriami naudojant *M. fortuitum* ATCC 6841 ir *M. kansasii* ATCC 12478 lašelių suspensijas, skiedžiant jas **BBL** „Middlebrook“ 7H9 buljonu. Mėgintuvėliai inkubuojami nevisiškai užsukus dangtelius 35 – 37 °C temperatūroje, CO₂ papildytoje atmosferoje 7 – 14 dienų. Esant *M. fortuitum* yra stebimas vidutinis arba didelis augimas. *M. kansasii* yra slopinama.

XIII. GALIMA ĮSIGYTI

Kat. Nr.	Aprašymas
----------	-----------

221116	BD BBL Lowenstein-Jensen Medium Mycoflask , 100 buteliukų dėžutė
220908	BD BBL Lowenstein-Jensen Medium Slants (terpės nuožulnieji agarai), 10 A dydžio mėgintuvėlių pakuotė
220909	BD BBL Lowenstein-Jensen Medium Slants (terpės nuožulnieji agarai), 100 A dydžio mėgintuvėlių dėžutė

XIV. LITERATŪRA

1. Lowenstein, E. 1931. Die Zachtung der Tuberkelba zillen aus dem stramenden Blute. Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt. I Orig. 120:127.
2. Lowenstein, E. 1933. Der kulturelle Nachweis von Tuberkelbakterien in Milch auf Malachitgrun Einahrboden. Ann. Inst. Pasteur. 50:161.
3. Sonnenschein. 1930. Dtsch. tierartze. Wehnschr. 38:115.
4. Hohn, J. 1931. Der Z-Einahrboden zur Kultur des Tuberkel-bazilus. Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt. I. Orig. 121:488-506.
5. Corper, H.J. 1919. The cultivation of recently isolated and laboratory strains of human tubercle bacilli on artificial media. Am. Rev. Tuberc. 3:461-472.
6. Petroff, S.A. 1918. J. Inf. Dis. 23:267.
7. Jensen, K.A. 1932. Rinzuchtung und Typenbestimmung von Tuberkelbazillentammen. Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt. I Orig. 125:222-239.
8. Wayne, L.G. 1962. Two varieties of *Mycobacterium kansasii* with different clinical significance. Am. Rev. Resp. Dis. 86:651-656.
9. Silcox, V.A., R.C. Good, and M.M. Floyd. 1981. Identification of clinical significant *Mycobacterium fortuitum* complex isolates. J. Clin. Microbiol. 14:686-691.
10. Kent, P.T., and G.P. Kubica. 1985. Public health mycobacteriology: a guide for the level III laboratory. USDHHS. Centers for Disease Control, Atlanta.
11. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
12. 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.

13. 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.
14. 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.
15. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller and R.H. Tenenbaum (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
16. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
17. Isenberg, H. (ed.). 2004. Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1, 2 and 3, 2nd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
18. Carnoch, P.L., R.K. Enns, M.A. Soubolle, 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.
19. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. Bergey's Manual of determinative bacteriology, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.
20. Palaci, M., S.Y.M., Ueki, D.N. Sato, M.A. Da Silva Tellis, M. Curcio, and E.A.M. Silva. 1996. Evaluation of Mycobacteria Growth Indicator Tube of recovery and drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from respiratory specimens. J. Clin. Microbiol. 34:762-764.

Techninis aptarnavimas ir palaikymas iš „BD Diagnostics“: kreipkitės į vietinį BD atstovą arba 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