

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

L007464 • Rev. 11 • Oktober 2015

KVALITETSKONTROLPROCEDURER (Valgfrit)**I INDLEDNING**

Lowenstein-Jensen-medium anvendes til isolering og dyrkning af mycobakterier. Mediet anvendes i agarrør til den semikvantitative katalasetest som hjælp til klassificering af mycobakterier.

II FUNKTIONSTESTPROCEDURE**A. Procedure til præparation af inokulater**

1. Inokuler Lowenstein-Jensen-medium i skråagar med stamkulturer af de pågældende mycobakteriestammer ved hjælp af sterile inokuleringspinde.
2. Inkuber rør med løsnede låg i aerob atmosfære tilsat carbondioxid ved $35 \pm 2^\circ\text{C}$, indtil der opnås kraftig vækst (sædvanligvis inden for to-tre uger).
3. Høst kolonimassen med en steril, skærpet applikatorpind ved forsigtigt at fjerne cellerne fra overfladen af mediet, uden at dyrkningsmedium skrabs af sammen med kolonimassen.
 - a. Ved *Mycobacterium tuberculosis* ATCC 25177:
 - (1) Overfør kolonimassen til et sterilt rør med skruelåg indeholdende sterile glasperler og 5,0 mL Middlebrook 7H9-bouillon med glycerol.
 - (2) Sling røret omhyggeligt (i flere minutter), indtil suspensionen er fri for store klumper.
 - (3) Sammenlign suspensionen med en McFarland-nefelometerstandard #1. Suspensionen skal være mere uklar end standarden.
 - (4) Lad glasset stå i stativ i 2–3 timer ved rumtemperatur, for at større partikler kan bundfældes.
 - (5) Overfør supernatanten til en steril beholder.
 - (6) Juster suspensionens uklarhed, til den svarer til McFarland-standard #1, ved langsomt at tilsætte steril Middlebrook 7H9-bouillon med glycerol. Omryst grundigt.
 - (7) Fortynd til 10^5 CFU/mL før brug. Bland suspensionen godt, og inokuler den på testmediet ved strygning med en 0,01 mL kalibreret podenål med øje.
 - b. Ved alle andre mycobakteriestammer:
 - (1) Overfør kolonimassen til et sterilt 50 mL centrifugerør med skruelåg, indeholdende 8 til 12 sterile glasperler (diameter 2 mm) og 5 mL fortyndingsmedium til mycobakterier, fremstillet på følgende måde:
 - Bland følgende ingredienser i en 1-liters kolbe, og juster pH til 6,7 til 7,0 med 1N natriumhydroxid
 - Bovint albumin (fedtsyrefrit)..... 1,0 g
 - Polysorbat 80..... 0,1 mL
 - Renset vand..... 500 mL
 - Steriliser ved membranfiltrering (0,2 µ filter)
 - Overfør aseptisk i mængder a 5,5 mL til sterile rør med skruelåg.
 - (2) Benyt en applikatorpind til at emulgere kolonimassen af mycobakterier på sidevæggen af et centrifugerør med skruelåg. Bland kolonimassen med fortyndingsmediet.
 - (3) Sæt låget på røret, og slyng det i ca. 10 minutter, til kolonimassen er godt opslæmmet og fri for store klumper.
 - (4) Tilsæt 15 mL steril fortyndingsvæske til mycobakterier, og bland grundigt.
 - (5) Sammenlign suspensionen med en McFarland-nefelometerstandard #1. Suspensionen skal være mere uklar end standarden.
 - (6) Lad glasset stå i stativ i 2-3 timer ved rumtemperatur, for at større partikler kan bundfældes.
 - (7) Aspirer supernatanten og overfør den til en steril beholder. Suspensionen skal være mere uklar end en McFarland-standard #1 og fri for store partikler. Er der

store partikler tilstede, skal suspensionen blandes og derefter henstå i yderligere en time. Overfør supernatanten til en steril beholder.

- (8) Juster suspensionens uklarhed, så den svarer til McFarland-standard #1, ved langsomt at tilsætte sterilt fortyndingsmedium til mycobakterier. Omryst grundigt.
- (9) Overfør alikvoter af suspensionen i kryo-hætteglas, der er mærket med organismernes identitet og fremstillingsdatoen.
- (10) Frys suspensionerne ved at stille hætteglassene i en lavtemperaturfryser ved -60°C . Hætteglassene kan opbevares i indtil seks måneder.
- (11) Tag det frosne hætteglas ud af fryseren, når suspensionen skal bruges, og optø indholdet i vandbad ved 30 til 35°C . Fortynd til 10^5 CFU/mL før brug. Bland suspensionen godt, og inokuler den på testmediet ved strygning med en 0,01 mL kalibreret podepind med øje.

B. Procedurer til testning af medier

Agarrør med Lowenstein-Jensen-medium

1. Inokuler de kulturer, der er fremstillet som beskrevet ovenfor, på overfladen med en steril 0,01 mL engangspodenål med øje.
2. Inkuber rørene med løstsiddende låg ved $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ i aerob atmosfære suppleret med carbondioxid.
3. Efter 14 dages inkubering tilsættes hver kultur 1,0 mL polysorbat 80-peroxidblanding, fremstillet på følgende måde:
 - a. 30 % hydrogenperoxid. Opbevares i køleskab.
 - b. 10 % polysorbat 80, fremstillet på følgende måde:
 - (1) Bland 10 mL polysorbat 80 med 90 mL rensed vand.
 - (2) Autoklaver ved 121°C i 10 minutter.
 - (3) Opbevares i køleskab.
 - c. Bland de to opløsninger i lige store mængder umiddelbart før testen udføres.
4. Lad kulturerne stå i opret stilling i 5 minutter ved rumtemperatur.
5. Mål søjlehøjden af bobler (i mm) over mediets overflade.

6. Forventede resultater

Søjlehøjde af bobler over 45 mm.

**Mycobacterium kansasii*, gruppe I

ATCC 12478

Mycobacterium scrofulaceum, gruppe II

ATCC 19981

Mycobacterium fortuitum, gruppe IV

ATCC 6841

Søjlehøjde af bobler under 45 mm.

**Mycobacterium tuberculosis*

H37Ra ATCC 25177

Mycobacterium intracellulare, gruppe III

ATCC 13950

*Anbefalet organismestamme til brugerkvalitetskontrol.

Lowenstein-Jensen-medium i skråagar og flasker

1. Inokuler repræsentative prøver med de nedenfor angivne kulturer.
 - a. Inokuler skråagar eller flasker med de mycobakteriekulturer, der er fremstillet som beskrevet ovenfor, ved hjælp af kalibrerede, sterile 0,01 mL engangspodenåle med øje.
 - b. Inkuber beholderne med løstsiddende låg ved $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ i aerob atmosfære suppleret med carbondioxid.
2. Undersøg rørene eller flaskerne efter 7, 14 og 21 dage for vækst, selektivitet og pigmentering.
3. Forventede resultater
 - a. Ved Lowenstein-Jensen-medium
CLSI-kontrolorganismer (ATCC-stammer)
**Mycobacterium tuberculosis* Vækst
H37Ra (25177)
**Mycobacterium kansasii*, Vækst
Gruppe I (12478)
**Mycobacterium scrofulaceum*, Vækst
Gruppe II (19981)

**Mycobacterium intracellulare*, Vækst

Gruppe III (13950)

**Mycobacterium fortuitum*, Vækst

Gruppe IV (6841)

b. Ved Lowenstein-Jensen-medium med 5 % natriumchlorid

**Mycobacterium fortuitum* Vækst

ATCC 6841

**Mycobacterium kansasii* Ingen vækst

ATCC 12478

*Anbefalet organismestamme til brugerkvalitetskontrol.

III YDERLIGERE KVALITETSKONTROL

1. Undersøg rør eller glas som beskrevet under "Produktforringelse".
2. Undersøg repræsentative rør eller flasker visuelt for at sikre, at eventuelle eksisterende fysiske defekter ikke vil påvirke anvendelsen.
3. Kontrollér potentiometrisk ved rumtemperatur, at pH er inden for specifikationen $7,0 \pm 0,2$.
4. Inkuber uinokulerede repræsentative rør eller flasker ved 20 til 25 °C og 30 til 35 °C, og undersøg dem efter 7 og 14 dage for mikrobiel kontaminering.

PRODUKTINFORMATION

IV TILSIGTET BRUG

Lowenstein-Jensen-medium anvendes til dyrkning af *Mycobacterium tuberculosis* og andre mycobakteriearter.

V RESUMÉ OG FORKLARING

Lowenstein sammensatte oprindeligt til dyrkning af mycobakterier et medium, der indeholdt congorødt og malachitgrønt til delvis hæmning af andre bakterier.^{1,2} Samme farvestoffer blev på tilsvarende måde anvendt af andre undersøgere, således Sonnenschein³ og Hohn⁴. I USA fik Corpers⁵ and Petroffs⁶ gentianviolet-medier udbredelse i lighed med Petragnanis medium, der indeholdt malachitgrønt. Den nuværende sammensætning, der er udviklet af Jensen⁷, har ikke helt samme indhold af citrat og fosfat, indeholder ikke congorødt og har større indhold af malachitgrønt.

Produkter med Lowenstein-Jensen-medium, fremstillet af BBL, omfatter skråagar-rør til generel brug ved dyrkning af *Mycobacterium*, flasker, som bruges, når større overfladeareal er nødvendigt, og agar-rør til den semi-kvantitative katalasetest. Sidstnævnte metode, der er udviklet af Wayne⁸, er nyttig til klassificering af mycobakterier.

Derudover leveres mediet tilsat 5 % natriumchlorid, da evnen til at tåle 5 % natriumchlorid er karakteristisk for visse af mycobakteriestammer (f.eks. *M. fortuitum* og *M. chelonae* subsp. *abscessus*).⁹ De fleste hurtigtvoksende mycobakterier, de langsomtvoksende *M. triviale* og visse stammer af *M. flavescens* vokser ligeledes på NaCl-holdige medier. Den manglende evne af *M. chelonae* subsp. *chelonae* til at vokse gør den lettere at skelne fra andre medlemmer af *M. fortuitum*-gruppen (f.eks. *M. chelonae* subsp. *abscessus*).^{9,10}

VI METODENS PRINCIPPER

Lowenstein-Jensen Medium Base har en forholdsvis simpel sammensætning, der må suppleres for at støtte væksten af mycobakterier. En blanding af glycerol og æg tilsættes inden storkning. Derved tilføres fedtsyrer og protein, der er nødvendigt for mycobakteriers stofskifte. Ved koagulationen af æggealbumin under steriliseringen fås et fast medium til inokuleringsbrug.

VII REAGENSER

Lowenstein-Jensen-medium

Omtrentlig sammensætning* pr. 600 mL rensat vand

Monokaliumfosfat	2,5	g
Magnesiumsulfat	0,24	g
Natriumcitrat	0,6	g
L-asparagin	3,6	g
Kartoffelmel	30,0	g
Malachitgrønt	0,4	g
Glycerol	12,0	mL
Hele æg	1000,0	mL

*Justeret og/eller suppleret som påkrævet for at opfylde funktionskriterier.

Lowenstein-Jensen-medium med 5 % natriumchlorid indeholder ovenstående stoffer samt 80 g natriumchlorid pr. 600 mL.

Advarsler og forholdsregler

Til diagnostisk brug *in vitro*.

Rør og glas med stramme låg skal åbnes forsigtigt for at undgå personskaade fra knust glas.

Patogene mikroorganismer, herunder hepatitisvirus og HIV, kan forekomme i kliniske prøver. "Standardforholdsregler"¹¹⁻¹⁴ og institutionelle retningslinier skal overholdes ved håndtering af alt materiale, der er kontamineret med blod og andre legemsvæsker. Steriliser præparerede glas, prøvebeholdere og andre kontaminede materialer efter brug ved autoklavering, inden de bortskaffes.

Ved ikke-aerosolfrembringende håndtering af kliniske prøver, således fremstilling af udstrykningspræparater af syrefaste organismer, skal praksis og procedurer samt indeslutningsudstyr og -faciliteter være i overensstemmelse med biosikkerhedsniveau 2. Alt aerosolfrembringende arbejde skal udføres i biologisk sikkerhedskabinet af klasse I eller II. Ved laboratoriearbejde, der omfatter formering og håndtering af kulturer af *M. tuberculosis* og *M. bovis*, skal praksis og procedurer samt indeslutningsudstyr og -faciliteter være i overensstemmelse med biosikkerhedsniveau 3. Til dyreforsøg kræves desuden særlige procedurer.¹³

Opbevaringsinstruktioner

Rør og flasker skal efter modtagelse opbevares mørkt ved 2-8 °C. Undgå frysning og for høj temperatur. Må ikke åbnes inden brugstidspunktet. Begræns lyspåvirkning til det mindst mulige. Medier, der har været opbevaret i henhold til anvisningerne på etiketten indtil umiddelbart inden brug, kan inokuleres frem til udløbsdatoen og inkuberes i de anbefalede inkubationstidsrum. Lad mediet opnå stuetemperatur inden inokulering.

Produktforringelse

Anvend ikke rør eller flasker, hvis de frembyder tegn på mikrobiel kontaminering, misfarvning, udtørring eller andet, der tyder på forringelse.

VIII PRØVEINDSAMLING OG -HÅNDTERING

Præparater, der er egnet til dyrkning, kan håndteres med forskellige teknikker. Detaljerede oplysninger herom findes i de pågældende tekster.^{15,16} Prøver skal tages, inden behandling med antimikrobielle midler gives. Sørg for prompte levering til laboratoriet.

IX PROCEDURE

Vedlagte materialer

Lowenstein-Jensen-medium eller
Lowenstein-Jensen-medium med 5 % natriumchlorid

Nødvendige materialer, der ikke er vedlagt

Hjælpedyrkningsmedier, reagenser, organismer til kvalitetskontrol og nødvendigt laboratorieudstyr.

Testprocedure

Overhold aseptisk teknik.

De angivne testprocedurer er dem, der anbefales af Centers for Disease Control (CDC) til primær isolering fra prøver indeholdende mykobakterier¹⁰. En opløsning af N-acetyl-L-cystein-natriumhydroxid (NALC-NaOH) anbefales som et mildt, men effektivt opløsende og dekontaminerende middel. De nævnte reagenser er indeholdt i **BBL MycoPrep Mycobacterial Specimen Digestion/ Decontamination Kit**. Der henvises til relevant litteratur^{10, 16-18} vedrørende nærmere anvisninger for dekontaminering og dyrkning.

Efter inokulering skal testbeholderne anbringes beskyttet mod lys i et egnet system, der opretholder aerob atmosfære beriget med carbondioxid. Inkuber de inokulerede skråagar-rør og flasker ved 35 ± 2 °C.

Skråagar og medier på flaske skal inkuberes vandret, indtil inokulatet er absorberet. Rør og flasker skal i de første 3 uger have løstsiddende låg for at give mulighed for tilførsel af carbondioxid til igangsættelse af væksten. Skru derefter lågene til for at forhindre dehydrering; løsn lågene kortvarigt en gang om ugen. Anbring rørene stående i tilfælde af pladsproblemer.

BEMÆRK: Kulturer fra hudlæsioner, der formodes at indeholde *M. marinum* eller *M. ulcerans*, skal inkuberes ved 25 til 33 °C til primær isolation. Kulturer, der udviser optimal vækst ved 40 til 42 °C, kan indeholde *M. avium* eller *M. xenopi*.¹⁰ Inkuber et ekstra eksemplar af kulturen ved 35 til 37 °C.

Følgende procedure anbefales til semi-quantitativ katalasetest med Lowenstein-Jensen-medium i agarrør:¹⁰

1. Inokuler overfladen af mediet for hver teststamme enten med 0,1 mL syv dage gammel kultur i bouillon eller med en løkkefuld kolonimasse fra en aktivt voksende kultur på skråagar. Inkuber desuden rør med en stærkt katalasedannende kultur, f.eks. *M. kansasii*, og en svagt enzymdannende stamme, f.eks. *M. intracellulare*, som kontroller.
2. Inkuber med løsnede låg ved 35 ± 2 °C i to uger.
3. Fremstil en polysorbat 80-peroxidblanding ved blanding af lige dele af:
 - a. en autoklaveret 10 % opløsning af polysorbat 80 i destilleret vand, eller en fortynding af 1 mL steril polysorbat 80 i 9 mL destilleret vand,
 - b. hydrogenperoxid (30 %).
4. Tilsæt 1 mL af polysorbat 80-peroxidblandingen til hver kultur. Notér søjlehøjden af bobler i mm 5 minutter.

Følgende procedure anbefales ved natriumchlorid-tolerancetest:^{10,17}

1. Fremstil en suspension af en aktivt voksende subkultur i Middlebrook 7H9-bouillon, som svarer til en McFarland-uklarhedsstandard nr. 1.
2. Inokuler 0,1 mL af den standardiserede kultur på skråagar med Lowenstein-Jensen-medium med 5 % natriumchlorid. Inokuler på samme måde på skråagar med samme medium uden NaCl som vækstkontrol.
3. Inkuber med løstsiddende låg i CO₂-beriget atmosfære, først 1 uge i fladt stativ, ved 28 til 30 °C for hurtigtvoksende og ved 35 ± 2 °C for langsomtvoksende organismer.
4. Undersøg kulturen for vækst hver uge. Fortsæt om nødvendigt inkuberingen i yderligere tre uger.

Bruger kvalitetskontrol

Se "Kvalitetskontrolprocedurer"

Hvert medieparti er blevet testet ved hjælp af passende kvalitetskontrolorganismer, og denne testning opfylder produktspecifikationerne og CLSI-standarderne, hvor det er relevant. Kvalitetskontroltestning skal som altid udføres i overensstemmelse med gældende lokale eller nationale regulativer, akkrediteringskrav og/eller laboratoriets standardkvalitetskontrolprocedurer.

X RESULTATER

Inspicer kulturerne inden for 5 til 7 dage efter inokulering og derefter én gang om ugen i op til 8 uger.

Notér følgende iagttagelser:

1. Antal dage, der kræves, før kolonierne er makroskopisk synlige. Hurtigtvoksende organismer danner modne kolonier inden for 7 dage; langsomtvoksende organismer kræver over 7 dage til at danne modne kolonier.
2. Pigmentproduktion
Hvid, flødefarvet eller gulbrun = ikke-kromogen (NC)
Citrongul, gul, orange, rød = kromogen (Ch)

I farvede udstrykningspræparater kan der være syrebestandige baciller, der imidlertid ikke beskrives som "syrebestandige baciller", medmindre der udføres definitive tests.

Flasker kan undersøges ved at vende dem om på objektbordet under et dissektionsmikroskop. Aflæs ved 10–60x med gennemfaldende lys. Gennemse hurtigt flaskerne ved 10–20x for tilstedeværelse af kolonier. Ved stærkere forstørrelse (30–60x) kan man bedre iagttage kolonimorfologien, dvs. slyngede trådlignende kolonier.

Ved den semikvantitative katalasetest falder de fleste mycobacterier i to grupper:^{8,10,16}

1. Søjlehøjden af bobler over 45 mm.
M. chelonae
M. fortuitum
M. gordonae
M. kansasii (klinisk betydning)
M. scrofulaceum

2. Søjlehigheden af bobler under 45 mm.

M. avium

M. bovis

M. gastri

M. haemophilum

M. intracellulare

M. kansasii (uden klinisk betydning)

M. malmoense

M. marinum

M. tuberculosis

M. xenopi

Vækst eller manglende vækst i røret med mediet med 5 % NaCl er til hjælp, når forskellige isolater af mycobakterier skal skelnes fra hinanden. Salttolerancetesten er positiv, når der ses mange kolonier på kontrolmediet og over 50 kolonier på mediet med 5 % NaCl.^{10,17} Når der er kolonidannelse på kontrolmediet, men ingen synlig vækst på testmediet efter i alt 4 ugers inkubation, er testen negativ.^{10,16,17}

XI PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER

Organismerne skal være i renkultur for at kunne identificeres. Til endelig identifikation bør udføres morfologiske, biokemiske og/eller serologiske tests. Yderligere oplysninger og anbefalede procedurer kan findes i de pågældende tekster.^{15, 16, 19}

XII FUNKTIONSDATA

Lowenstein-Jensen-medium

I en undersøgelse foretaget af Palaci et al. blev 85 prøver fra respirationsveje inokuleret på Lowenstein-Jensen (LJ) skråagar og i BBL MGIT-rør ved standardprocedurer. Femogtyve (25) prøver fandtes positive for *M. tuberculosis*. Kulturfølsomheden for både LJ og MGIT var 96,1 % (25 af 26 kulturer positive). Detektionstiden var væsentligt kortere i MGIT-rør, men der var ingen væsentlig forskel mellem de to metoder i detektionsfølsomhed for *M. tuberculosis*.²⁰

Agarrør med Lowenstein-Jensen-medium

Inden frigivelse bliver alle lots af agarrør med Lowenstein-Jensen-medium testet for specifikke produktkarakteristika. Stikprøverne testes med *M. fortuitum* ATCC 6841, *M. intracellulare* ATCC 13950, *M. kansasii* ATCC 12478, *M. scrofulaceum* ATCC 19981 og *M. tuberculosis* ATCC 25177 ved inokulering af 0,2 mL suspension i Middlebrook 7H9-bouillon. Rørene bliver inkuberet med løstsiddende låg i indtil 3 uger ved 35–37 °C. Der bliver fremstillet en polysorbat 80-peroxid-blanding, hvorefter 1 mL tilsættes til hver kultur. Efter 5 minutter noteres søjlehigheden af bobler i mm. Katalasereaktionen er positiv, hvis søjlehigheden af bobler er over 45 mm. Katalasereaktionen er negativ, hvis søjlehigheden af bobler er under 45 mm. Positiv katalasereaktion ses med *M. fortuitum*, *M. kansasii* og *M. scrofulaceum*. Negativ katalasereaktion ses med *M. intracellulare* og *M. tuberculosis*.

Lowenstein-Jensen-medium med 5 % natriumchlorid

Inden frigivelse bliver alle lots Lowenstein-Jensen-medium med 5 % natriumchlorid testet for specifikke produktkarakteristika. Prøverne testes med celsuspensioner af *M. fortuitum* ATCC 6841 og *M. kansasii* ATCC 12478, opslæmmet i BBL Middlebrook 7H9-bouillon til en koncentration af 10³ til 10⁴ CFU. Rørene inkuberes med løstsiddende låg ved 35–37 °C i 7 til 14 dage i CO₂-beriget atmosfære. Der ses moderat til kraftig vækst med *M. fortuitum*. *M. kansasii* hæmmes.

XIII BESTILLING

Kat. nr.	Beskrivelse
----------	-------------

221116	BD BBL Mycoflask med Lowenstein-Jensen-medium, pakning a 100 flasker
--------	--

220908	BD BBL-skråagar med Lowenstein-Jensen-medium, pakning a 10 rør, str. A
--------	--

220909	BD BBL-skråagar med Lowenstein-Jensen-medium, pakning a 100 rør, str. A
--------	---

XIV LITTERATUR

1. Lowenstein, E. 1931. Die Zachtung der Tuberkelba zillen aus dem stramenden Blute. Zentralbl. Bakteriöl. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt. I Orig. 120:127.
2. Lowenstein, E. 1933. Der kulturelle Nacheweis 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. Bakteriöl. 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 kanasii* 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. Tenover (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.

BD Diagnostics Teknisk service og support: skal De kontakte den lokale BD repræsentant eller besøge 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