



BBL Lowenstein-Jensen Medium with 5% Sodium Chloride

L007464 • wersja 11 • Październik 2015

PROCEDURY KONTROLI JAKOŚCI (Opcjonalnie)

I WPROWADZENIE

Podłoże Lowenstein-Jensen Medium służy do izolacji i hodowli prątków. Podłoże w głębokich probówkach służy do półilościowego badania reakcji wytwarzania katalazy, przydatnego w klasyfikacji prątków.

II PROCEDURA KONTROLI DZIAŁANIA

A. Procedura przygotowania inokulum

1. Zaszczepić na skośnych podłożach Lowenstein-Jensen hodowle macierzyste odpowiednich szczepów prątków, używając sterylnych pałeczek.
2. Inkubować próbówki z poluzowanymi nakrętkami w atmosferze tlenowej wzbogaconej dwutlenkiem węgla, w temperaturze $35 \pm 2^\circ\text{C}$, aż do uzyskania intensywnego wzrostu (zwykle po 2–3 tygodniach).
3. Zebrać wyhodowane kultury za pomocą sterylnego zaostrzonego aplikatora. Delikatnie zbierać komórki z powierzchni podłoża, uważając, by nie zagarnąć podłoża razem z zebrany materiałem komórkowym.

a. W przypadku szczepu *Mycobacterium tuberculosis* ATCC 25177:

- (1) Przenieść hodowlę do 5,0 mL pożywki Middlebrook 7H9 Broth with Glycerol w sterylnej szklanej probówce z zakrętką zawierającej sterylne paciorki szklane.
- (2) Dobrze odwirować (przez kilka minut), tak aby zawiesina nie zawierała dużych zgrupowań.
- (3) Porównać zawiesinę ze wzorcem nefelometrycznym McFarland nr 1. Zawiesina powinna być bardziej mętna niż wzorec.
- (4) Umieścić probówkę w statywie i pozostawić na 2–3 h w temperaturze pokojowej, aby większe cząstki osiadły na dnie.
- (5) Przenieść supernatant do sterylnego pojemnika.
- (6) Skorygować zmętnienie zawiesiny do wzorca McFarland nr 1, powoli dodając sterylną pożywkę Middlebrook 7H9 Broth with Glycerol. Dokładnie wstrząsnąć.
- (7) Przed użyciem rozcieńczyć do 10^5 CFU/mL. Dobrze wymieszać i wykonać posiew pożywki testowej za pomocą ezy kalibrowanej (0,01 mL).

b. W przypadku wszystkich innych szczepów prątków:

- (1) Przenieść hodowlę do sterylnej 50 mL zakręcanej probówki do wirówek, zawierającej od 8 do 12 sterylnych paciorków szklanych (o średnicy 2 mm) i 5 mL rozcieńczalnika do hodowli prątków przygotowanego w następujący sposób:
 - Wymieszać następujące składniki w butelce o pojemności 1 L i skorygować pH do 6,7–7,0 1N wodorotlenkiem sodu:
albumina surowicy wołowej (bez kwasów tłuszczowych) 1,0 g
Polysorbate 80 0,1 mL
Woda oczyszczona 500 mL
 - Poddać sterylizacji, przesączając przez błonę (filtr 0,2 μ).
 - Stosując technikę aseptyczną, rozlać po 5,5 mL do sterylnych probówek z zakrętkami.
- (2) Za pomocą aplikatora wytworzyć emulsję hodowli prątków na ściankach bocznych zakręcanej probówki do wirówek. Wymieszać hodowlę z rozcieńczalnikiem.
- (3) Zakręcić probówkę i wirować przez około 10 min, aż do wytworzenia zawiesiny bakterii niezawierającej dużych zgrupowań.
- (4) Dodać 15 mL sterylnego rozcieńczalnika do hodowli prątków i dokładnie wymieszać.
- (5) Porównać zawiesinę ze wzorcem nefelometrycznym McFarland nr 1. Zawiesina powinna być bardziej mętna niż wzorec.
- (6) Umieścić probówkę w statywie i pozostawić na 2–3 h w temperaturze pokojowej, aby większe cząstki osiadły na dnie.

- (7) Odessać supernatant i przenieść do sterylnego pojemnika. Zawiesina musi być bardziej mętna od wzorca McFarland nr 1 i nie może zawierać dużych cząstek. Jeśli nadal obecne są duże cząstki, wymieszać zawiesinę i pozostawić bez ruchu na 1 h. Przenieść supernatant do sterylnego pojemnika.
- (8) Skorygować zmętnienie zawiesiny do wzorca McFarland nr 1, powoli dodając sterylny rozcieńczalnik do prątków. Dokładnie wstrząsnąć.
- (9) Rozlać porcje zawiesiny do fiolek przystosowanych do zamrażania, opatrzonych etykietami z nazwą drobnoustrojów i datą sporządzenia.
- (10) Zamrozić zawiesiny, umieszczając fiołki w chłodziarce niskotemperaturowej, w temperaturze -60°C . Fiolki można przechować przez okres maks. 6 miesięcy.
- (11) Gdy będzie potrzebna, wyjąć zamrożoną fiołkę z chłodziarki i szybko rozmrozić zawartość, umieszczając probówkę w łaźni wodnej o temperaturze 30 do 35°C . Przed użyciem rozcieńczyć do 10^5 CFU/mL. Dobrze wymieszać i wykonać posiew pożywki testowej za pomocą ezy kalibrowanej (0,01 mL).

B. Procedury testowania podłoża

Lowenstein-Jensen Medium Deep (Podłoże Lowenstein-Jensen Medium w głębokich probówkach)

1. Wykonać posiew hodowli przygotowanych w sposób opisany powyżej na powierzchniach przylegających za pomocą sterylnej jednorazowej ezy 0,01 mL.
2. Inkubować próbki z poluzowanymi zakrętkami, w temperaturze $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$, w atmosferze tlenowej wzbogaconej dwutlenkiem węgla.
3. Po 14 dniach inkubacji dodać do każdej hodowli 1,0 mL mieszanki Polysorbate 80 z nadtlaniem wodoru, przygotowanej w następujący sposób:
 - a. Nadtlenek wodoru 30%. Przechowywać w chłodziarce.
 - b. Roztwór 10% Polysorbate 80 przygotowany w następujący sposób:
 - (1) Zmieszać 10 mL Polysorbate 80 z 90 mL oczyszczonej wody.
 - (2) Sterylizować przez 10 min w autoklawie, w temperaturze 121°C .
 - (3) Przechowywać w chłodziarce.
 - c. Bezpośrednio przed badaniem wymieszać oba roztwory w równych proporcjach.
4. Pozostawić hodowle stojące w pozycji pionowej na 5 min w temperaturze pokojowej.
5. Zmierzyć wysokość (w mm) kolumny pęcherzyków nad powierzchnią podłoża.
6. Oczekiwane wyniki

Kolumna pęcherzyków wyższa niż 45 mm.

**Mycobacterium kansasii*, grupa I

ATCC 12478

Mycobacterium scrofulaceum, grupa II

ATCC 19981

Mycobacterium fortuitum, grupa IV

ATCC 6841

Kolumna pęcherzyków niższa niż 45 mm.

**Mycobacterium tuberculosis*

H37Ra ATCC 25177

Mycobacterium intracellulare, grupa III

ATCC 13950

**Szczep zalecany do przeprowadzania kontroli jakości przez użytkownika.*

Lowenstein-Jensen Medium Slants and Bottles (Lowenstein-Jensen Medium jako podłoże skośne w probówkach i podłoże w butelkach)

1. Podłoża zaszczyć reprezentatywnymi próbkami wymienionych szczepów.
 - a. Za pomocą jednorazowych ez kalibrowanych (0,01 mL) wykonać posiew hodowli prątków przygotowanych zgodnie z powyższą procedurą na podłożach skośnych lub w butelkach.
 - b. Inkubować pojemniki z poluzowanymi zakrętkami, w temperaturze $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$, w atmosferze tlenowej wzbogaconej dwutlenkiem węgla.
 2. Po 7, 14 i 21 dniach skontrolować próbki lub butelki, oceniając stopień wzrostu, zabarwienie i selektywność.
 3. Oczekiwane wyniki
 - a. Dla podłoża Lowenstein-Jensen Medium
- Gatunki kontrolne CLSI (szczepy wzorcowe ATCC)
- *Mycobacterium tuberculosis* Wzrost

H37Ra (25177)
 **Mycobacterium kansasii*, Wzrost
 grupa I (12478)
 **Mycobacterium scrofulaceum*, Wzrost
 grupa II (19981)
 **Mycobacterium intracellulare*, Wzrost
 grupa III (13950)
 **Mycobacterium fortuitum*, Wzrost
 grupa IV (6841)

b. Dla podłoża Lowenstein-Jensen Medium with 5% Sodium Chloride

**Mycobacterium fortuitum* Wzrost
 ATCC 6841
 **Mycobacterium kansasii* Brak wzrostu
 ATCC 12478

*Szczep zalecany do przeprowadzania kontroli jakości przez użytkownika.

III DODATKOWA KONTROLA JAKOŚCI

1. Zbadać próbki butelki, zgodnie z opisem w punkcie „Pogorszenie jakości produktu”.
2. Wzrokowo skontrolować reprezentatywne próbki butelki, aby upewnić się, że ewentualne wady fizyczne nie będą miały wpływu na ich użycie.
3. Metodą potencjometryczną określić pH w temperaturze pokojowej, aby upewnić się, że odczyn jest zgodny ze specyfikacją i wynosi $7,0 \pm 0,2$.
4. Inkubować niezaszczepione reprezentatywne próbki i butelki w temperaturze 20–25°C oraz 30–35°C, a po 7 i 14 dniach zbadać w kierunku skażenia mikrobiologicznego.

INFORMACJE O PRODUKCIE

IV PRZEZNACZENIE

Podłoże Lowenstein-Jensen Medium służy do hodowli *Mycobacterium tuberculosis* oraz innych gatunków prątków.

V STRESZCZENIE I WYJAŚNIENIA

Lowenstein pierwotnie opracował podłoże do hodowli prątków zawierające czerwien Kongo i zieleń malachitową — barwniki częściowo hamujące wzrost innych bakterii.^{1,2} Barwniki te były również używane w podobny sposób przez innych badaczy, w szczególności Sonnenscheina³ i Hohna.⁴ W Stanach Zjednoczonych popularne było podłoże zawierające fiolet metylowy, opracowane przez Corpera⁵ i Petroffa⁶, a także podłoże Petragnanego zawierające zieleń malachitową. Obecna formuła, opracowana przez Jensena⁷, charakteryzuje się nieznacznie zmodyfikowaną zawartością cytrynianów i fosforanów oraz zwiększonym stężeniem zieleni malachitowej i nie zawiera czerwieni Kongo.

Gotowe podłoża **BBL** Lowenstein-Jensen Medium mają postać probówek z podłożem skośnym stosowanych w hodowli gatunków *Mycobacterium*, butelek używanych w sytuacji, gdy potrzebna jest większa powierzchnia podłoża, oraz głębokich probówek z podłożem służących do przeprowadzania półilościowych badań katalazy. Ta ostatnia procedura została opracowana przez Wayne'a⁸ i jest przydatna w klasyfikacji prątków.

Ponadto dostępne jest podłoże z dodatkiem 5% chlorku sodu, gdyż tolerancja na chlorek sodu w stężeniu 5% jest charakterystyczna dla niektórych szczepów prątków (np. *M. fortuitum* i *M. chelonae* subsp. *abscessus*).⁹ Na podłożu zawierającym NaCl wzrasta także większość szczepów szybko wzrastających, wolno wzrastające *M. triviale* i niektóre szczepy *M. flavescens*. Niezdolność *M. chelonae* subsp. *chelonae* do wzrostu pomaga w odróżnieniu tego szczepu od innych należących do kompleksu *M. fortuitum* (np. *M. chelonae* subsp. *abscessus*).^{9,10}

VI ZASADY PROCEDURY

Lowenstein-Jensen Medium Base ma stosunkowo prosty skład, który wymaga uzupełnienia, tak aby sprzyjał wzrostowi prątków. Przed zagęszczeniem do podłoża dodawana jest mieszanka glicerolu i jaj. Substancje te są źródłem kwasów tłuszczowych i białek metabolizowanych przez prątki. W wyniku koagulacji albumin jaj podczas sterylizacji powstaje stałe podłoże hodowlane.

VII ODCZYNNIKI

Lowenstein-Jensen Medium

Przybliżony skład* w przeliczeniu na jeden 600 mL wody oczyszczonej

Dwuwodorofosforan potasu	2,5	g
Siarczan (VI) magnezu	0,24	g
Cytrynian sodu	0,6	g
L-asparagina	3,6	g
Mąka ziemniaczana	30,0	g
Zieleń malachitowa	0,4	g
Glicerol	12,0	mL
Jaja (pełne)	1000,0	mL

*Skorygowany i (lub) uzupełniony zgodnie z wymaganiami mającymi na celu spełnienie kryteriów wydajności.

Podłoże Lowenstein-Jensen Medium with 5% Sodium Chloride zawiera powyższe składniki oraz dodatkowo 80 g chlorku sodu na 600 mL.

Ostrzeżenia i środki ostrożności

Do stosowania w diagnostyce *in vitro*.

Probówki i butelki z ciasno dopasowanymi zatyczkami należy otwierać ostrożnie, aby uniknąć obrażeń spowodowanych pęknięciem szkła.

W próbkach klinicznych mogą być obecne drobnoustroje chorobotwórcze, w tym wirusy zapalenia wątroby i wirus HIV. Podczas pracy ze wszelkimi materiałami skażonymi krwią i innymi płynami ustrojowymi należy przestrzegać „Standardowych środków ostrożności”¹¹⁻¹⁴ oraz wytycznych obowiązujących w danej placówce. Używane gotowe probówki, pojemniki na próbki oraz inne materiały skażone należy przed wyrzuceniem poddać sterylizacji w autoklawie.

Podczas pracy z próbkami klinicznymi, w przebiegu których nie są wytwarzane aerozole, np. przy przygotowywaniu rozmazów kwasoopornych, należy przestrzegać zasad postępowania i procedur oraz stosować wyposażenie ochronne właściwe dla poziomu 2 bezpieczeństwa biologicznego (Biosafety Level 2). Wszystkie czynności, w wyniku których powstają aerozole, należy przeprowadzać w szafce ochronnej o I lub II klasie bezpieczeństwa biologicznego. W przypadku prac laboratoryjnych związanych z reprodukowaniem i obróbką hodowli *M. tuberculosis* i *M. bovis* obowiązkowe jest przestrzeganie zasad i użycie wyposażenia ochronnego właściwego dla poziomu 3 bezpieczeństwa biologicznego (Biosafety Level 3). Również badania próbek pochodzenia zwierzęcego wymagają zastosowania procedur specjalnych.¹³

Instrukcje przechowywania

Otrzymane probówki i butelki umieścić i przechowywać w ciemnym miejscu, w temperaturze 2–8°C. Unikać zamrażania i przegrzewania. Otwierać dopiero bezpośrednio przed użyciem. Do minimum ograniczać kontakt ze światłem. W pożywkach przechowywanych do momentu użycia, zgodnie z instrukcjami podanymi na etykiecie, można wykonywać posiewy do dnia określonego terminem ważności, a następnie prowadzić inkubację przez zalecany czas. Przed posiewem ogrzać podłoże do temperatury pokojowej.

Pogorszenie jakości produktu

Nie używać probówek lub butelek, jeżeli są widoczne oznaki skażenia mikrobiologicznego, odbarwienia, wyschnięcia lub inne, świadczące o pogorszeniu jakości.

VIII POBIERANIE PRÓBEK I POSTĘPOWANIE Z NIMI

Dostępne są różne techniki postępowania z próbkami umożliwiającymi uzyskanie hodowli. Szczegółowe informacje można znaleźć w literaturze przedmiotu.^{15,16} Probki należy pobrać przed podaniem środków przeciwbakteryjnych. Probki powinny zostać niezwłocznie dostarczone do laboratorium.

IX PROCEDURA

Dostarczane materiały

Lowenstein-Jensen Medium lub

Lowenstein-Jensen Medium with 5% Sodium Chloride

Materiały wymagane, ale niedostarczane

Pomocnicze pożywki hodowlane, odczynniki, szczepy do kontroli jakości i wyposażenie laboratoryjne zgodnie z wymaganiami.

Procedura testowa

Stosować techniki aseptyczne.

Procedury testowe są identyczne z zalecanymi przez Ośrodki Kontroli i Zapobiegania Chorobom (CDC) do pierwszej izolacji z próbek zawierających prątki.¹⁰ Zalecane jest użycie wodorotlenku N-acetylo-L-cysteino sodowego (NALC-NaOH) w charakterze delikatnego, lecz skutecznego środka roztwarzającego i odkażającego. Odczynniki te zawarte są w zestawie **BBL MycoPrep Mycobacterial Specimen Digestion/Decontamination Kit**. Szczegółowe instrukcje odkażania i prowadzenia hodowli można znaleźć w odpowiednim piśmiennictwie.^{10, 16-18}

Po zaszczepieniu pojemniki testowe należy przechowywać w miejscu osłoniętym przed światłem, w odpowiednim systemie zapewniającym atmosferę tlenową o podwyższonej zawartości dwutlenku węgla. Probówki z posiewem na podłożach skośnych i butelki inkubować w temperaturze $35 \pm 2^\circ\text{C}$.

Podłoża w probówkach i butelkach należy inkubować w płaszczyźnie poziomej, aż do wchłonięcia inokulum. Przez pierwsze 3 tygodnie zakrętki probówek i butelek powinny być poluzowane, co umożliwi obieg dwutlenku węgla i zainicjowanie wzrostu. Później probówki należy zakręcić, aby zapobiec odwodnieniu; raz w tygodniu na krótko rozszczelniać. Jeśli ilość dostępnego miejsca jest ograniczona, probówki można postawić pionowo.

UWAGA: Hodowle ze zmian skórnych, co do których podejrzewa się, że zawierają bakterie *M. marinum* lub *M. ulcerans*, należy w celu pierwszej izolacji inkubować w temperaturze $25\text{--}33^\circ\text{C}$; hodowle, w których podejrzewa się obecność bakterii *M. avium* lub *M. xenopi*, wzrastają optymalnie w temperaturze $40\text{--}42^\circ\text{C}$.¹⁰ Duplikat hodowli inkubować w temperaturze $35\text{--}37^\circ\text{C}$.

Poniżej przedstawiono zalecaną procedurę półilościowego badania katalazy przy użyciu probówek z podłożem Lowenstein-Jensen Medium:¹⁰

1. Na powierzchni podłoża wykonać posiew 0,1 mL 7-dniowej hodowli na bulionie lub jednej z kolonii aktywnie wzrastającej na podłożu skośnym w probówce. Wykonać w ten sposób posiew każdego ze szczepów kontrolnych. Dodatkowo wykonać w probówkach posiew kontrolnych hodowli intensywnie wytwarzających katalazę, np. *M. kansasii*, oraz szczepu mało intensywnie wytwarzających enzym, np. *M. intracellulare*.
2. Przez 2 tygodnie inkubować z poluzowaną zatyczką w temperaturze $35 \pm 2^\circ\text{C}$.
3. Przygotować mieszkankę Polysorbate 80 z nadtlaniem wodoru, mieszając w równych proporcjach:
 - a. wysterylizowany w autoklawie 10% roztwór Polysorbate 80 w wodzie destylowanej lub 1 mL sterylnej Polysorbate 80 rozcieńczony w 9 mL wody destylowanej;
 - b. nadtlenek wodoru (30%).
4. Do każdej hodowli dodać 1 mL mieszkanki Polysorbate 80 z nadtlaniem. Po 5 min zanotować wysokość (w mm) kolumny pęcherzyków.

Poniżej przedstawiono zalecaną procedurę badania tolerancji na chlorek sodu:^{10,17}

1. Sporządzić zawiesinę hodowli pochodnej aktywnie wzrastającej w pożywce Middlebrook 7H9 Broth o zmętnieniu równym wzorcowi McFarland nr 1.
2. Wykonać posiew 0,1 mL znormalizowanej hodowli na skośne podłoże Lowenstein-Jensen Medium with 5% Sodium Chloride. W podobny sposób wykonać posiew na skośnym podłożu niezawierającym NaCl (probówka kontroli wzrostu).
3. Inkubować z poluzowanymi zatyczkami w atmosferze wzbogaconej CO_2 , początkowo na statywie w pozycji poziomej, przez 1 tydzień, w temperaturze $28\text{--}30^\circ\text{C}$ w przypadku szczepów szybko wzrastających lub $35 \pm 2^\circ\text{C}$ w przypadku szczepów wolno wzrastających.
4. Co tydzień kontrolować wzrost. W razie potrzeby kontynuować inkubację przez następnie trzy tygodnie.

Kontrola jakości przez użytkownika

Zobacz „Procedury kontroli jakości”.

Każda partia podłoża została przetestowana przy użyciu odpowiednich drobnoustrojów do kontroli jakości. Ten rodzaj testowania jest zgodny ze specyfikacją produktu i standardami CLSI, jeśli mają zastosowanie. Jak zwykle, testy należy wykonać zgodnie z obowiązującymi wymogami kontroli jakości, wynikającymi z przepisów miejscowych, stanowych, federalnych lub krajowych, wymogami akredytacji i/lub rutynowymi procedurami kontroli jakości w danym laboratorium.

X WYNIKI

Hodowle należy obserwować przez 5–7 dni od posiewu, a potem raz w tygodniu, maksymalnie przez 8 tygodni.

Zanotować spostrzeżenia:

1. Liczbę dni, po jakiej kolonie stały się widoczne makroskopowo. Szczepy szybko wzrastające tworzą dojrzałe kolonie przed upływem 7 dni; dojrzałe kolonie szczepów wolno wzrastających powstają po więcej niż 7 dniach.

2. Odbarwienie

Białe, śmietankowe lub błyszczące = niechromogenne (NC)

Cytrynowe, żółte, pomarańczowe, czerwone = chromogenne (Ch)

Na wybarwionych wymazach mogą pojawiać się laseczki kwasooporne. Do czasu przeprowadzenia ostatecznych testów należy je w dokumentacji identyfikować wyłącznie jako „laseczki kwasooporne”.

Butelki można zbadać, odwracając je na stoliku przedmiotowym mikroskopu operacyjnego. Zbadać przy powiększeniu 10-60x, przepuszczając światło. Szybko przeskanować przy powiększeniu 10-20x w celu stwierdzenia obecności kolonii. Większe powiększenia (30-60x) są przydatne do obserwacji morfologii kolonii (kolonie nitkowate, przypominające serpentyny).

Na podstawie wyników półilościowego badania katalazy większość prątków można zaliczyć do dwóch grup.^{8,10,16}

1. Kolumna pęcherzyków wyższa niż 45 mm.

M. chelonae

M. fortuitum

M. gordonae

M. kansasii (istotne klinicznie)

M. scrofulaceum

2. Kolumna pęcherzyków niższa niż 45 mm.

M. avium

M. bovis

M. gastri

M. haemophilum

M. intracellulare

M. kansasii (nieistotne klinicznie)

M. malmoense

M. marinum

M. tuberculosis

M. xenopi

Obecność lub brak wzrostu w próbówce z podłożem zawierającym 5% NaCl pomaga w różnicowaniu wyizolowanych szczepów prątków. Wynik testu tolerancji na sól jest dodatni, gdy na podłożu kontrolnym pojawiają się liczne kolonie, a na podłożu zawierającym 5% NaCl wzrasta więcej niż 50 kolonii.^{10,17} Pojawienie się kolonii na podłożu kontrolnym, którym jednak nie towarzyszy wzrost na podłożu testowym po 4 tygodniach inkubacji, stanowią podstawę do uznania wyniku za ujemny.^{10,16,17}

XI OGRANICZENIA PROCEDURY

Do identyfikacji niezbędne są czyste kultury drobnoustrojów. W celu ostatecznej identyfikacji należy przeprowadzić badania morfologiczne, biochemiczne i/lub serologiczne. Szczegółowe informacje i opisy zalecanych procedur można znaleźć w stosownej literaturze.^{15,16,19}

XII CHARAKTERYSTYKA WYNIKÓW

Lowenstein-Jensen Medium

W badaniu przeprowadzonym przez Palaciego i in. wykonano posiew 85 próbek pochodzących z dróg oddechowych na skośnym podłożu Lowenstein-Jensen (LJ) i w próbkach BBL MGIT, stosując standardowe procedury. Dwadzieścia pięć (25) próbek dało wynik dodatni w teście na obecność *M. tuberculosis*. Czulość hodowli na podłożach LJ i MGIT była taka sama i wynosiła 96,1% (25 z 26 hodowli dodatnich). Mimo że czas, po którym możliwe było wykrycie prątków, był wyraźnie krótszy w przypadku próbek MGIT, między obydwoma metodami nie wystąpiła wyraźna różnica w czulości wykrywania *M. tuberculosis*.²⁰

Lowenstein-Jensen Medium Deep's

Wszystkie partie podłoża Lowenstein-Jensen Medium Deep's są fabrycznie testowane pod kątem określonych właściwości. Próbkę testowaną są przy użyciu szczepów *M. fortuitum* ATCC 6841, *M. intracellulare* ATCC 13950, *M. kansasii* ATCC 12478, *M. scrofulaceum* ATCC 19981 i *M. tuberculosis* ATCC 25177 poprzez wykonanie posiewów 0,2 mL zawiesin Middlebrook 7H9 Broth. Probówki są inkubowane z poluzowanymi zatyczkami przez 3 tygodnie w temperaturze 35-37°C.

Przygotowywana jest mieszanina Polysorbate 80 z nadtlakiem wodoru. Do każdej hodowli dodawany jest 1 mL takiej mieszaniny. Po 5 min zapisywana jest wysokość (w mm) kolumny pęcherzyków. Za dodatni wynik testu na reakcję wytwarzania katalazy uznaje się kolumnę pęcherzyków o wysokości przekraczającej 45 mm. Za wynik ujemny uznawana jest kolumna pęcherzyków niższa niż 45 mm. Dodatni wynik testu na reakcję wytwarzania katalazy jest charakterystyczny dla *M. fortuitum*, *M. kansasii* i *M. scrofulaceum*. Ujemny wynik testu jest charakterystyczny dla *M. intracellulare* and *M. tuberculosis*.

Lowenstein-Jensen Medium with 5% Sodium Chloride

Wszystkie partie podłoża Lowenstein-Jensen Medium with 5% Sodium Chloride są fabrycznie testowane pod kątem określonych właściwości. Próbkę są testowane przy użyciu zawiesin komórek szczepów *M. fortuitum* ATCC 6841 i *M. kansasii* ATCC 12478 rozcieńczonych do 10^3 – 10^4 CFU w pożywce BBL Middlebrook 7H9 Broth. Probówki inkubowane są przez 7–14 dni z poluzowanymi zatyczkami w temperaturze 35-37°C, w atmosferze wzbogaconej CO₂. W przypadku *M. fortuitum* obserwowany jest umiarkowany lub intensywny wzrost. Wzrost *M. kansasii* jest hamowany.

XIII DOSTĘPNOŚĆ

Nr kat.	Opis
221116	BD BBL Lowenstein-Jensen Medium Mycoflask, pudełko 100 butelek
220908	BD BBL Lowenstein-Jensen Medium Slants, opakowanie 10 próbek o rozmiarze A
220909	BD BBL Lowenstein-Jensen Medium Slants, pudełko 100 próbek o rozmiarze A

XIV REFERENCES

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. Tenen (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.

Dział Obsługi Technicznej firmy BD Diagnostics: należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem BD lub odwiedzić stronę 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