



BBL Lowenstein-Jensen Medium with 5% Sodium Chloride

L007464 • Rev. 11 • Outubro 2015

PROCEDIMENTOS DE CONTROLO DE QUALIDADE (Opcional)

I INTRODUÇÃO

O Lowenstein-Jensen Medium (meio de Lowenstein-Jensen) é utilizado para o isolamento e cultivo de micobactérias. O meio que se encontra dentro de um tubo de agar é utilizado para o teste de catalase semi-quantitativa para auxiliar a classificação de micobactérias.

II PROCEDIMENTO DO TESTE DE DESEMPENHO

A. Procedimento para a preparação de inóculos

1. Inocular os tubos inclinados de Lowenstein-Jensen Medium (meio de Lowenstein-Jensen) com culturas de reserva das estirpes das micobactérias pertinentes utilizando varetas de inoculação esterilizadas.
2. Incubar os tubos com as tampas soltas numa atmosfera aeróbia suplementada com dióxido de carbono a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ até que seja obtido um crescimento elevado (normalmente no período de 2 a 3 semanas).
3. Proceder à colheita da cultura com uma vareta aplicadora esterilizada e pontiaguda, removendo suavemente as células da superfície do meio e com muito cuidado para não incluir o meio de cultura com a colheita de células.

a. Para *Mycobacterium tuberculosis* ATCC 25177:

- (1) Transferir a cultura para o 5,0 mL de Caldo de Middlebrook 7H9 com glicerol num tubo de vidro esterilizado com tampa de rosca contendo esferas de vidro estéreis.
- (2) Misturar bem num vortex (durante alguns minutos) até a suspensão ficar sem aglomerados de grande dimensão.
- (3) Comparar esta suspensão com um nefelómetro padrão McFarland no. 1. A suspensão deverá apresentar uma turvação superior à do padrão.
- (4) Colocar o tubo num suporte durante 2 a 3 h à temperatura ambiente para permitir que as partículas de grande dimensão assentem na parte inferior.
- (5) Transferir o líquido sobrenadante para um recipiente esterilizado.
- (6) Ajustar a turvação da suspensão para o padrão McFarland no. 1, adicionando lentamente Caldo Middlebrook 7H9 com glicerol estéril. Misturar bem.
- (7) Diluir para 10^5 CFU/mL antes de utilizar. Misturar bem e inocular em tiras o meio de teste utilizando uma ansa calibrada de 0,01 mL.

b. Para todas as estirpes de micobactérias:

- (1) Transferir a cultura para um tubo de centrifugação esterilizado com de 50 mL com tampa de rosca 8 contendo 12 esferas de vidro estéreis (2 mm de diâmetro) e 5 mL de Diluente Mycobacterium preparado da seguinte forma:
 - Misturar os ingredientes apresentados em seguida num frasco de 1 L e ajustar o pH, utilizando 1-N-hidróxido de sódio, de 6,7 para 7,0

Albumina bovina (sem ácidos gordos)	1,0 g
Polisorbato 80.....	0,1 mL
Água purificada.....	500 mL

 - Esterilizar por filtração por membrana (filtro de $0,2 \mu$)
 - Distribuir de forma asséptica, em quantidades de 5,5 mL, em tubos esterilizados com tampas de rosca.
- (2) Emulsionar o crescimento das micobactérias na parede lateral de um tubo de centrifugação com tampa de rosca utilizando uma vareta aplicadora. Misturar a cultura com o diluente.
- (3) Tapar o tubo e misturar em "vortex" durante aproximadamente 10 min até a cultura ficar devidamente suspensa e sem agregados de grande dimensão.
- (4) Adicionar 15 mL de Diluente Mycobacterium estéril e misturar bem.
- (5) Comparar esta suspensão com um nefelómetro padrão McFarland no. 1. A suspensão deverá apresentar uma turvação superior à do padrão.
- (6) Colocar o tubo num suporte durante 2 a 3 h à temperatura ambiente para permitir que as partículas de grande dimensão assentem na parte inferior.

- (7) Aspirar o líquido sobrenadante e transferi-lo para um recipiente esterilizado. A suspensão deverá apresentar uma turvação superior à do padrão McFarland 1 e não deverá apresentar partículas de grande dimensão. Se ainda se verificar a existência de partículas de grande dimensão, misturar e deixar repousar por mais uma 1 h. Transferir o líquido sobrenadante para um recipiente esterilizado.
- (8) Ajustar a turvação da suspensão para o padrão McFarland no. 1, adicionando lentamente Diluente Mycobacterium estéril. Misturar bem.
- (9) Distribuir alíquotas da suspensão em frascos de congelação com uma etiqueta indicando a identificação dos organismos e a data da preparação.
- (10) Congelar as suspensões colocando os frascos num congelador de baixa temperatura a -60°C . Os frascos podem ser armazenados durante 6 meses, no máximo.
- (11) Quando for a altura da utilização, remover o frasco congelado do congelador e descongelar rapidamente o conteúdo, colocando o tubo em banho maria com uma temperatura entre 30 e 35°C . Diluir para 10^5 CFU/mL antes de utilizar. Misturar bem e inocular em tiras o meio de teste utilizando uma ansa calibrada de 0,01 mL.

B. Procedimentos para o meio de teste

Lowenstein-Jensen Medium Deepes (tubos de agar de meio de Lowenstein-Jensen)

1. Inocular as superfícies da extremidade com uma ansa de inoculação esterilizada descartável de 0,01 mL, utilizando culturas preparadas através do método descrito em cima.
2. Incubar os tubos com as tampas soltas a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ numa atmosfera aeróbia suplementada com dióxido de carbono.
3. Após 14 dias de incubação, adicionar a cada cultura 1,0 mL de uma mistura de peróxido e polisorbato 80 preparada da seguinte forma:
 - a. Peróxido de hidrogénio a 30%. Armazenar no frigorífico.
 - b. Polisorbato 80 a 10% preparado da seguinte forma:
 - (1) Misturar 10 mL de polisorbato 80 com 90 mL de água purificada.
 - (2) Esterilizar em autoclave a 121°C durante 10 min.
 - (3) Armazenar no frigorífico.
 - c. Imediatamente antes de realizar o teste, misturar em partes iguais as duas soluções.
4. Manter as culturas numa posição vertical durante 5 min à temperatura ambiente.
5. Medir (mm) a altura da coluna de bolhas à superfície do meio.
6. Resultados esperados

Coluna de bolhas superior a 45 mm de altura.

**Mycobacterium kansasii*, Grupo I

ATCC 12478

Mycobacterium scrofulaceum, Grupo II

ATCC 19981

Mycobacterium fortuitum, Grupo IV

ATCC 6841

Coluna de bolhas inferior a 45 mm de altura.

**Mycobacterium tuberculosis*

H37Ra ATCC 25177

Mycobacterium intracellulare, Grupo III

ATCC 13950

**Estirpe de organismo recomendada para o Controlo de Qualidade pelo Utilizador.*

Tubos inclinados e Frascos de Meio de Lowenstein-Jensen

1. Inocular as amostras representativas com as culturas listadas abaixo.
 - a. Utilizando ansas de inoculação esterilizadas descartáveis de 0,01 mL, inocular os tubos inclinados ou os frascos utilizando culturas de micobactérias preparadas através do método descrito em cima.
 - b. Incubar os frascos com as tampas soltas a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ numa atmosfera aeróbia suplementada com dióxido de carbono.
2. Examinar os tubos ou frascos após 7, 14 e 21 dias para observar o crescimento, selectividade e pigmentação.
3. Resultados esperados
 - a. Para Lowenstein-Jensen Medium (meio de Lowenstein-Jensen)

Organismos de Controlo CLSI (Estirpes ATCC)

**Mycobacterium tuberculosis* Crescimento

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

b. Para Lowenstein-Jensen Medium with 5% Sodium Chloride (meio de Lowenstein-Jensen com cloreto de sódio a 5%)

**Mycobacterium fortuitum* Crescimento
 ATCC 6841
 **Mycobacterium kansasii* Sem crescimento
 ATCC 12478

*Estirpe de organismo recomendada para o Controlo de Qualidade pelo Utilizador.

III CONTROLO DE QUALIDADE ADICIONAL

1. Examinar os tubos ou os frascos como descrito em "Deterioração do Produto".
2. Examinar visualmente os tubos ou frascos representativos para se certificar de que quaisquer defeitos físicos existentes não irão interferir com a utilização.
3. Determinar o pH de forma potenciométrica, à temperatura ambiente, para o cumprimento das especificações de $7,0 \pm 0,2$.
4. Incubar os tubos ou frascos representativos não inoculados a uma temperatura entre 20 e 25°C e 30 e 35°C e examinar após 7 e 14 dias para verificar se apresentam contaminação microbiana.

INFORMAÇÕES SOBRE O PRODUTO

IV UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O Lowenstein-Jensen Medium (meio de Lowenstein-Jensen) é utilizado para o cultivo de *Mycobacterium tuberculosis* e outras espécies de micobactérias.

V RESUMO E EXPLICAÇÃO

Lowenstein formulou originalmente um meio para cultivo de micobactérias ao qual foram incorporados vermelho congo e verde malaquite para a inibição parcial de outras bactérias.^{1,2} Estes corantes foram utilizados de forma semelhante por outros investigadores, particularmente Sonnenschein³ e Hohn.⁴ Nos Estados Unidos os meios de genciana violetas de Corper⁵ e Petroff⁶ foram bastante referenciados assim como o meio de Petragnani, que continha verde malaquite. A presente fórmula, desenvolvida por Jensen,⁷ contém um teor ligeiramente diferente de citrato e fosfato, não contém vermelho congo e possui uma concentração elevada de verde malaquite.

Os produtos preparados da BBL de Meio de Lowenstein-Jensen incluem tubos inclinados para uso geral no cultivo de espécies de *Mycobacterium*, frascos para utilizar quando se pretende obter uma maior área de superfície e tubos de agar para a realização de testes de catalase semi-quantitativa. Este último procedimento foi desenvolvido por Wayne⁸ é útil para a classificação de micobactérias.

Além disso, o meio está disponível com a adição de cloreto de sódio a 5%, uma vez que a capacidade para tolerar cloreto de sódio a 5% é uma característica de determinadas estirpes de micobactérias (por exemplo, *M. fortuitum* e *M. chelonae* subespécie *abscessus*).⁹ Nos meios que contém NaCl é também possível verificar o crescimento de organismos de crescimento mais rápido, a *M. triviale* de crescimento lento e algumas estirpes de *M. flavescens*. A incapacidade de crescimento da *M. chelonae* subespécie *chelonae* ajuda a diferenciá-la de outros membros do complexo de *M. fortuitum* (por exemplo, *M. chelonae* subespécie *abscessus*).^{9,10}

VI PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

A base do Lowenstein-Jensen Medium (meio de Lowenstein-Jensen) consiste numa formulação relativamente simples que necessita de ser suplementada para suportar o crescimento de micobactérias. O glicerol e a mistura de ovo são adicionados antes do processo de espessamento. Estas substâncias fornecem os ácidos gordos e proteínas necessários para o metabolismo das micobactérias. A coagulação da albumina de ovo durante a esterilização fornece um meio sólido para fins de inoculação.

VII REAGENTES

Lowenstein-Jensen Medium

Fórmula Aproximada* por 600 mL de Água Purificada

Fosfato monopotássico	2,5 g
Sulfato de magnésio	0,24 g
Citrato de sódio	0,6 g
L-Asparagina	3,6 g
Farinha de batata	30,0 g
Verde malaquite	0,4 g
Glicerol	12,0 mL
Ovo inteiro	1000,0 mL

*Ajustada e/ou suplementada conforme necessário para cumprir os critérios do desempenho.

O Lowenstein-Jensen Medium with 5% Sodium Chloride (meio de Lowenstein-Jensen com cloreto de sódio a 5%) contém os ingredientes descritos em cima em conjunto com 80 g de cloreto de sódio, por cada 600 mL.

Advertências e Precauções

Para diagnóstico *in vitro*.

Os tubos e os frascos que têm as tampas fechadas devem ser abertos com cuidado para evitar lesões provocadas pela quebra do vidro.

Nas amostras clínicas podem existir microrganismos patogénicos, incluindo vírus de hepatites e o Vírus da Imunodeficiência Humana. No manuseamento de todos os itens contaminados com sangue e outros fluidos corporais, devem ser seguidas as "Precauções Padrão"¹¹⁻¹⁴ e as linhas de orientação da instituição. Após a utilização e antes de serem eliminados, esterilizar em autoclave os tubos preparados, os recipientes das amostras e outros materiais contaminados.

Para as manipulações de amostras clínicas que produzem produtos não-aerossóis, tal como a preparação de esfregaços com coloração ácida rápida, são exigidas práticas e procedimentos, equipamento de contenção e instalações de Nível 2 de Biossegurança. Todas as actividades que geram aerossóis têm que ser executadas numa câmara de segurança biológica de Classe I ou II. Para as actividades laboratoriais de propagação e manipulação de culturas de *M. tuberculosis* e *M. bovis*, são exigidas práticas, equipamento de contenção e instalações de Nível 3 de Biossegurança. Os estudos animais também exigem procedimentos especiais.¹³

Instruções de armazenamento

Após a recepção, armazenar os tubos e os frascos no escuro a uma temperatura entre 2 e 8°C.

Evitar congelar e aquecer excessivamente. Abrir apenas quando estiver pronto a utilizar.

Minimizar a exposição à luz. Os meios que forem armazenados conforme indicado no rótulo, até pouco antes de serem utilizados, podem ser inoculados até ao fim do prazo de validade e incubados durante o período de incubação recomendado. Antes da inoculação, deixar o meio aquecer até à temperatura ambiente.

Deterioração do produto

Não utilizar os tubos ou frascos que apresentem sinais de contaminação microbiana, descoloração, seca ou outros sinais de deterioração.

VIII COLHEITA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

As amostras adequadas para cultura podem ser manipuladas com diversas técnicas. Para obter informações mais detalhadas, consulte os textos apropriados.^{15,16} As amostras devem ser colhidas antes de serem administrados os agentes antimicrobianos. Devem tomar-se providências para a entrega imediata no laboratório.

IX PROCEDIMENTO

Material fornecido

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

Materiais necessários mas não fornecidos

Meios de cultura auxiliares, reagentes, organismos de controlo de qualidade e equipamento de laboratório conforme necessário.

Procedimento do teste

Cumprir as técnicas assépticas.

Os procedimentos de teste são os recomendados pelo Centers for Disease Control and Prevention (CDC) para o isolamento primário de espécies que contenham micobactérias.¹⁰ É recomendada uma solução de N-acetil-L-cisteína-hidróxido de sódio (NALC-NaOH) como agente de digestão e descontaminação suave, mas eficaz. Estes reagentes são fornecidos no kit de descontaminação/digestão de amostras de micobactérias **BBL MycoPrep**. Para obter as instruções detalhadas de descontaminação e cultura, consultar a bibliografia apropriada.^{10, 16-18}

Após a inoculação, manter os recipientes de teste protegidos da luz e colocados num sistema adequado que forneça uma atmosfera aeróbia enriquecida com dióxido de carbono. Incubar os tubos inclinados e os frascos a $35 \pm 2^\circ\text{C}$.

Os meios que se encontram dentro de tubos inclinados e em frascos deverão ser incubados num plano horizontal até o inóculo ser absorvido. Os tubos e os frascos deverão ter as tampas de rosca desapertadas durante as primeiras 3 semanas para permitir a circulação do dióxido de carbono necessário para iniciar o crescimento. Decorrido este período, apertar as tampas para evitar a desidratação, desapertando durante alguns instantes uma vez por semana. Colocar os tubos na posição vertical se existirem problemas de espaço.

NOTA: As culturas de lesões cutâneas suspeitas de serem *M. marinum* ou *M. ulcerans* deverão ser incubadas a uma temperatura entre 25 a 33°C para o isolamento primário; as culturas nas quais se suspeite a existência de *M. avium* ou *M. xenopi* apresentam um crescimento ótimo a uma temperatura entre 40 a 42°C .¹⁰ Incubar uma cultura em duplicado a uma temperatura entre 35 e 37°C .

O procedimento recomendado para o teste de catalase semi-quantitativa utilizando tubos de agar de Lowenstein-Jensen Medium (meio de Lowenstein-Jensen) é o seguinte:¹⁰

1. Inocular a superfície do meio com 0,1 mL de uma cultura de meio líquido de 7 dias ou uma ansa cheia de cultura de um tubo inclinado que apresente um crescimento activo de cada estirpe de teste. Inocular também os tubos com uma cultura que apresente uma grande produção de catalase como, por exemplo, a *M. kansasii* e uma estirpe de enzima fraca como, por exemplo, a *M. intracellulare*, como controlo.
2. Incubar com a tampa solta, a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 2 semanas.
3. Preparar uma mistura de peróxido e polisorbato 80, adicionando partes iguais de:
 - a. Uma solução a 10% de polisorbato 80, esterilizada em autoclave, em água destilada ou uma diluição de 1 mL de polisorbato 80 estéril em 9 mL de água destilada.
 - b. Peróxido de hidrogénio (30%).
4. Adicionar 1 mL a mistura de peróxido e polisorbato 80 a cada cultura. Após decorridos 5 min, registar a altura em mm das colunas de bolhas.

O procedimento recomendado para o teste de tolerância de cloreto de sódio é o seguinte:^{10,17}

1. Preparar uma suspensão de uma subcultura que apresente um crescimento activo no Caldo de Middlebrook 7H9 de acordo com o padrão de turvação McFarland 1.
2. Inocular 0,1 mL da cultura normalizada num tubo inclinado de Lowenstein-Jensen Medium with 5% Sodium Chloride (meio de Lowenstein-Jensen com cloreto de sódio a 5%). Inocular de forma idêntica um tubo do meio sem o NaCl como um tubo de controlo de crescimento.
3. Incubar com as tampas soltas numa atmosfera enriquecida com CO_2 , inicialmente num suporte plano durante 1 semana a uma temperatura entre 28 a 30°C para os organismos de crescimento rápido e a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ para os organismos de crescimento lento.
4. Examinar semanalmente para verificar a evolução do crescimento. Se necessário, prolongar a incubação durante mais três semanas.

Controlo de qualidade pelo utilizador

Consultar "Procedimentos de controlo de qualidade."

Cada lote de meio foi testado com microrganismos de controlo de qualidade adequados e estes testes cumprem as especificações do produto e as normas CLSI, quando aplicáveis. Como é norma, os testes de CQ devem ser realizados de acordo com os regulamentos locais, distritais, federais ou nacionais, os requisitos de acreditação e/ou os procedimentos padrão de controlo de qualidade do laboratório.

X RESULTADOS

As culturas deverão ser lidas no período de 5 a 7 dias após a inoculação e, a partir daí, uma vez por semana durante 8 semanas.

Observações sobre o registo:

1. Número de dias necessários para as colónias ficarem macroscopicamente visíveis. Os organismos de crescimento rápido apresentam colónias maduras ao fim de 7 dias; os organismos de crescimento lento necessitam de um período superior a 7 dias para formar colónias maduras.
2. Produção de pigmentos
Branco, creme ou amarelo claro = Não-cromogénio (NC)
Amarelo limão, cor-de-laranja, vermelho = Cromogénio (Ch)

Os esfregaços sujeitos a coloração poderão apresentar bacilos com coloração ácida rápida, que são registados apenas como “bacilos corados pela coloração ácida rápida,” excepto se foram realizados testes definitivos.

Para examinar os frascos deve-se invertê-los na plataforma de um microscópio para dissecação. Ler a 10-60x com a luz transmitida. Ler rapidamente a 10-20x para verificar a presença de colónias. Uma ampliação superior (30-60x) ajuda a observar a morfologia das colónias, ou seja, colónias tipo fio de serpentina.

No teste de catalase semi-quantitativa, a maioria das micobactérias dividem-se em dois grupos.^{8,10,16}

1. Coluna de bolhas superior 45 mm de altura.

M. chelonae
M. fortuitum
M. gordonae
M. kansasii (com importância clínica)
M. scrofulaceum

2. Coluna de bolhas inferior a 45 mm de altura.

M. avium
M. bovis
M. gastri
M. haemophilum
M. intracellulare
M. kansasii (sem importância clínica)
M. malmoense
M. marinum
M. tuberculosis
M. xenopi

A presença ou ausência de crescimento no tubo de meio com NaCl a 5% contribui para a diferenciação dos isolados de micobactérias. O teste de tolerância ao sal tem um resultado positivo quando surgem várias colónias no meio de controlo e quando se verifica um crescimento de mais 50 colónias no meio com NaCl a 5%.^{10,17} A existência de colónias no meio de controlo mas sem um crescimento visível no meio de teste após um total de 4 semanas de incubação representa um teste negativo.^{10,16,17}

XI LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Para serem identificados, os organismos têm que estar numa cultura pura. Devem realizar-se testes morfológicos, bioquímicos e/ou serológicos para uma identificação final. Consultar os textos apropriados para obtenção de informações detalhadas e procedimentos recomendados.^{15,16,19}

XII CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

Lowenstein-Jensen Medium

Num estudo realizado por Palaci et al. foram inoculadas 85 amostras do aparelho respiratório em tubos inclinados de Lowenstein-Jensen (LJ) e em tubos **BBL MGIT** através de procedimentos normalizados. Vinte e cinco (25) amostras apresentaram um resultado positivo quanto a *M. tuberculosis*. A sensibilidade das culturas para LJ e **MGIT** foi de 96,1% (25 de 26 culturas positivas). Embora o tempo de detecção ter sido significativamente mais curto nos tubos **MGIT**, não se verificaram diferenças significativas relativamente à sensibilidade de detecção de *M. tuberculosis* entre os dois métodos.²⁰

Lowenstein-Jensen Medium Deep

Antes da entrega, todos os lotes de Lowenstein-Jensen Medium Deep (tubos de agar de meio de Lowenstein-Jensen) são testados quanto às suas características específicas do produto. As amostras são testadas com *M. fortuitum* ATCC 6841, *M. intracellulare* ATCC 13950, *M. kansasii* ATCC 12478, *M. scrofulaceum* ATCC 19981 e *M. tuberculosis* ATCC 25177 através da inoculação com 0,2 mL de suspensões de Caldo de Middlebrook 7H9. Os tubos são incubados com as tampas soltas durante 3

semanas a uma temperatura entre 35 e 37°C. Procede-se à preparação de uma mistura de peróxido e polisorbato 80 e adicionar-se 1 mL a cada cultura. Após decorridos 5 min, regista-se a altura em mm das colunas de bolhas. Uma reacção de catalase positiva é indicada por uma coluna de bolhas superior a 45 mm de altura. Uma reacção de catalase negativa é indicada por uma coluna de bolhas inferior a 45 mm de altura. Observou-se uma reacção de catalase positiva com *M. fortuitum*, *M. kansasii* e *M. scrofulaceum*. Observou-se uma reacção de catalase negativa com *M. intracellulare* e *M. tuberculosis*.

Lowenstein-Jensen Medium with 5% Sodium Chloride

Antes da entrega, todos os lotes de Lowenstein-Jensen Medium with 5% Sodium Chloride (meio de Lowenstein-Jensen com cloreto de sódio a 5%) são testados quanto às suas características específicas do produto. As amostras são testadas com suspensões de células de *M. fortuitum* ATCC 6841 e *M. kansasii* ATCC 12478 diluídas em BBL Middlebrook 7H9 Broth (caldo de Middlebrook) para produzir 10³ a 10⁴ CFU. Os tubos são incubados com as tampas soltas a uma temperatura entre 35 e 37°C durante um período de 7 a 14 dias numa atmosfera enriquecida com CO₂. Observou-se um crescimento moderado a elevado com a *M. fortuitum*. *M. kansasii* foi inibida.

XIII APRESENTAÇÃO

N.º de Cat. Descrição

221116	BD BBL Lowenstein-Jensen Medium Mycoflask, Caixa de 100 frascos
220908	BD BBL Lowenstein-Jensen Medium Slants, Embalagem de 10 tubos tamanho A
220909	BD BBL Lowenstein-Jensen Medium Slants, Caixa de 100 tubos tamanho A

XIV BIBLIOGRAFIA

- Lowenstein, E. 1931. Die Zachtung der Tuberkelba zillen aus dem stramenden Blute. Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt. I Orig. 120:127.
- Lowenstein, E. 1933. Der kulturelle Nachweis von Tuberkelbakterien in Milch auf Malachitgrun Einahrboden. Ann. Inst. Pasteur. 50:161.
- Sonnenschein. 1930. Dtsch. tierartze. Wehnschr. 38:115.
- Hohn, J. 1931. Der Z-Einahrboden zur Kultur des Tuberkel-bazilus. Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt. I. Orig. 121:488-506.
- 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.
- Petroff, S.A. 1918. J. Inf. Dis. 23:267.
- Jensen, K.A. 1932. Rinzuchtung und Typenbestimmung von Tuberkelbazillentammen. Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt. I Orig. 125:222-239.
- Wayne, L.G. 1962. Two varieties of *Mycobacterium kansasii* with different clinical significance. Am. Rev. Resp. Dis. 86:651-656.
- 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.
- Kent, P.T., and G.P. Kubica. 1985. Public health mycobacteriology: a guide for the level III laboratory. USDHHS. Centers for Disease Control, Atlanta.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
- Isenberg, H. (ed.). 2004. Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1, 2 and 3, 2nd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- 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.
- 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.
- 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.

Assistência Técnica e Suporte da BD Diagnostics: contacte o representante local da BD ou visite 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