

МЕТОДИКИ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА (Дополнительно)

I ВВЕДЕНИЕ

Среда Левенштейна-Йенсена используется для изоляции и культивирования микобактерий. Среда в пробирках с высоким столбиком используется для полуколичественного теста на основе каталазной реакции как вспомогательное средство классификации микобактерий.

II МЕТОДИКА ТЕСТИРОВАНИЯ

A. Методика подготовки инокулята

1. С помощью стерильных палочек для посева засевайте скошенные питательные среды Левенштейна-Йенсена исходными культурами подходящих штаммов микобактерий.
2. Выдерживайте пробирки с открытыми крышками в обогащенной диоксидом углерода аэробной атмосфере при температуре $35 \pm 2^\circ\text{C}$, пока не начнется активный рост (обычно в течение 2 – 3 недель).
3. Соберите культуру с помощью стерильного заостренного аппликатора, аккуратно удаляя клеточную массу с поверхности среды. Не захватывайте культуральную среду при сборе клеточной массы.
 - а) Для *Mycobacterium tuberculosis* ATCC 25177:
 - (1) Поместите культуру в 5,0 мл бульона Миддлбрука 7H9 с глицерином в стерильной стеклянной пробирке с закручивающейся крышкой и стерильными стеклянными шариками.
 - (2) Перемешайте в вихревой мешалке (в течение нескольких минут), пока в суспензии не разойдутся крупные комки.
 - (3) Сравните суспензию со стандартом нефелометра Макфарланда № 1. Суспензия должна быть более мутной по сравнению со стандартом.
 - (4) Поместите пробирку в штатив на 2 – 3 часа и дайте отстояться при комнатной температуре, чтобы крупные частицы осели на дно.
 - (5) Перелейте отстоявшийся слой жидкости в стерильный контейнер.
 - (6) Установите мутность суспензии по стандарту Макфарланда № 1, медленно добавляя стерильный бульон Миддлбрука 7H9 с глицерином. Хорошо встряхните.
 - (7) Перед использованием разбавьте до 10^5 КОЕ/мл. Хорошо перемешайте и засевайте штрихами тестовую среду, используя калиброванную петлю 0,01 мл.
 - б) Для остальных штаммов микобактерий:
 - (1) Поместите культуру в стерильную центрифужную пробирку с закручивающейся крышкой объемом 50 мл, содержащую 8 – 12 стерильных стеклянных шариков (диаметром 2 мм) и 5 мл растворителя для микобактерий, приготовленного следующим образом:
 - Перемешайте следующие ингредиенты в колбе вместимостью 1 л и установите pH, используя 1N. раствор гидроксида натрия, в интервале 6,7 – 7,0.
Альбумин бычьей сыворотки (без жирных кислот) 1,0 г
Полисорбат 80 0,1 мл
Очищенная вода 500 мл
 - Простерилизуйте фильтрованием через микропористую мембрану (фильтр 0,2 мкм).
 - Асептическим способом разведите и перенесите порции по 5,5 мл в стерильные пробирки с закручивающимися крышками.
 - (2) Приготовьте эмульсию культуры микобактерий на боковой стенке центрифужной пробирки с закручивающейся крышкой, используя аппликатор. Перемешайте культуру с растворителем.
 - (3) Закройте пробирку крышкой и поместите в вихревую мешалку примерно на 10 минут, пока культура не превратится в суспензию без крупных комков.
 - (4) Добавьте 15 мл стерильного растворителя для микобактерий и тщательно перемешайте.
 - (5) Сравните суспензию со стандартом нефелометра Макфарланда № 1. Суспензия должна быть более мутной по сравнению со стандартом.
 - (6) Поместите пробирку в штатив на 2 – 3 часа и дайте отстояться при комнатной температуре, чтобы крупные частицы осели на дно.
 - (7) Аспирируйте отстоявшийся слой жидкости и переместите его в стерильный контейнер. Суспензия должна быть более мутной, чем стандарт Макфарланда № 1, и не должна содержать крупных частиц. Если крупные частицы все же присутствуют, перемешайте и дайте отстояться дополнительно в течение часа. Перелейте отстоявшийся раствор в стерильный контейнер.
 - (8) Установите мутность суспензии в соответствии со стандартом Макфарланда № 1, медленно добавляя стерильный растворитель для микобактерий. Хорошо встряхните.
 - (9) Для помещения в морозильную камеру отмерьте аликвотные пробы суспензии во флаконы с маркировкой идентификации микроорганизма и даты приготовления.
 - (10) Заморозьте суспензии, поместив флаконы в морозильную камеру при температуре -60°C . Флаконы можно хранить до 6 месяцев.
 - (11) Для использования извлеките замороженный флакон из морозильной камеры и быстро разморозьте содержимое, поместив пробирку в водяную баню с температурой $30 - 35^\circ\text{C}$. Перед использованием разбавьте до 10^5 КОЕ/мл. Хорошо перемешайте и засевайте штрихами тестовую среду, используя калиброванную петлю 0,01 мл.

Б. Методики для среды тестирования

Среда Левенштейна-Йенсена в пробирках с высоким столбиком

1. Засейте поверхности столбиков культурами, подготовленными описанным выше способом, с помощью стерильной одноразовой бактериологической петли 0,01 мл.
2. Выдерживайте неплотно закрытые пробирки при температуре 35 ± 2 °C в аэробной атмосфере, обогащенной диоксидом углерода.
3. После 14 дней выдерживания добавьте к каждой культуре 1,0 мл смеси полисорбата 80 и пероксида, подготовленной следующим образом:
 - а) 30 % пероксид водорода. Храните в холодильнике.
 - б) 10 % полисорбат 80, подготовленный следующим образом:
 - (1) Смешайте 10 мл полисорбата 80 с 90 мл дистиллированной воды.
 - (2) Выполняйте автоклавирование при температуре 121 °C в течение 10 минут.
 - (3) Храните в холодильнике.
 - в) Непосредственно перед началом теста смешайте равные части двух растворов.
4. Оставьте культуры в вертикальном положении на 5 минут при комнатной температуре.
5. Измерьте высоту (в мм) столбика пузырьков над поверхностью среды.
6. Предполагаемые результаты

Высота столбика пузырьков превышает 45 мм.

**Mycobacterium kansasii*, группа I

ATCC 12478

Mycobacterium scrofulaceum, группа II

ATCC 19981

Mycobacterium fortuitum, группа IV

ATCC 6841

Высота столбика пузырьков меньше 45 мм.

**Mycobacterium tuberculosis* H37Ra

ATCC 25177

Mycobacterium intracellulare, группа III

ATCC 13950

*Штамм микроорганизма, рекомендуемый для пользовательского контроля качества.

Скошенная среда Левенштейна-Йенсена и флаконы со средой Левенштейна-Йенсена

1. Засейте репрезентативные образцы с перечисленными ниже культурами.
 - а) С помощью стерильных одноразовых бактериологических петлей 0,01 мл засейте скошенную поверхность или флаконы со средой микобактериальными культурами, подготовленными описанным выше способом.
 - б) Выдерживайте неплотно закрытые контейнеры при температуре 35 ± 2 °C в аэробной атмосфере, обогащенной диоксидом углерода.
2. Через 7, 14 и 21 день проверяйте пробирки или флаконы на наличие роста, селективности и пигментации.
3. Предполагаемые результаты
 - а) Для среды Левенштейна-Йенсена

Микроорганизмы CLSI	ATCC	Выделение
* <i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Ra	25177	Рост
* <i>Mycobacterium kansasii</i> , группа I	12478	Рост
* <i>Mycobacterium scrofulaceum</i> , группа II	19981	Рост
* <i>Mycobacterium intracellulare</i> , группа III	13950	Рост
* <i>Mycobacterium fortuitum</i> , группы IV	6841	Рост

- б) Для среды Левенштейна-Йенсена с 5 % хлорида натрия

Микроорганизмы	ATCC	Выделение
* <i>Mycobacterium fortuitum</i>	6841	Рост
* <i>Mycobacterium kansasii</i>	12478	Нет роста

*Штамм микроорганизма, рекомендуемый для пользовательского контроля качества.

III ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

1. Проверьте пробирки или флаконы, как описано в разделе «Разложение продукта».
2. Визуально проверьте репрезентативные пробирки или флаконы, чтобы убедиться в отсутствии физических дефектов, которые могут препятствовать использованию.
3. Определите уровень pH потенциометрическим способом при комнатной температуре, чтобы убедиться в соответствии характеристикам $7,0 \pm 0,2$.
4. Выдерживайте незасеянные репрезентативные пробирки или флаконы при температуре 20 – 25 °C и 30 – 35 °C и проверяйте на наличие бактериального заражения через 7 и 14 дней.

СВЕДЕНИЯ О ПРОДУКТЕ

IV НАЗНАЧЕНИЕ

Lowenstein-Jensen Medium (Среда Левенштейна-Йенсена) используется для выращивания *Mycobacterium tuberculosis* и других видов микобактерий.

V КРАТКИЙ ОБЗОР И ОПИСАНИЕ

Левенштейн (Lowenstein) изначально разработал среду для культивирования микобактерий, в которой конго красный и малахитовый зелёный были объединены для частичного ингибирования других бактерий.^{1,2} Эти красители таким же образом использовались другими исследователями, в частности, Зонненшайном (Sonnenschein)³ и Хоном (Hohn)⁴. В США был популярен генцианвиолет Корпера (Corper)⁵ и Петрова (Petroff)⁶, а также среда Петраньяни (Petragnani), содержащая малахитовый зелёный. Настоящая рецептура, разработанная Йенсеном (Jensen)⁷, слегка отличается содержанием цитрата и фосфата, не содержит конго красного и содержит малахитовый зелёный в большей концентрации.

Подготовленные BBL продукты среды Левенштейна-Йенсена включают скошенные питательные среды в пробирках для общего использования при культивировании организмов *Mycobacterium*, флаконы, которые используются, если требуется большая площадь поверхности, и среды в пробирках с высоким столбиком для выполнения полуколичественного теста на основе каталазной реакции. Последняя методика была разработана Уэйном (Wayne)⁸ и применяется для классификации микобактерий.

Кроме того, поставляется среда с добавлением 5 % хлорида натрия, так как устойчивость к 5 % раствору хлорида натрия является характеристикой некоторых штаммов микобактерий (например *M. fortuitum* и *M. chelonae*, подвид *abscessus*).⁹ Микобактерии с быстрым ростом, микобактерии с медленным ростом *M. triviale* и некоторые штаммы *M. flavescens* также культивируются в среде с содержанием NaCl. Неспособность *M. chelonae*, подвид *chelonae* к росту позволяет отличать их от других микобактерий комплекса *M. fortuitum* (например *M. chelonae*, подвид *abscessus*).^{9,10}

VI ПРИНЦИПЫ МЕТОДИКИ

Основа среды Левенштейна-Йенсена имеет относительно простой состав, который требует дополнения для поддержания роста микобактерий. До начала процесса сгущения в среду добавляются глицерин и яичная масса. В этих веществах содержатся жирные кислоты и белки, необходимые для метаболизма микобактерий. При коагуляции яичного альбумина во время стерилизации образуется плотная среда для посева.

VII РЕАГЕНТЫ

Lowenstein-Jensen Medium

Приблизительная рецептура* на 600 мл очищенной воды

Монокалия фосфат	2,5 г	Картофельный крахмал	30,0 г
Магния сульфат	0,24 г	Малахитовый зелёный	0,4 г
Натрия цитрат	0,6 г	Глицерин	12,0 мл
L-аспарагин	3,6 г	Цельное яйцо	1000,0 мл

* При необходимости изменяется и/или дополняется для соответствия критериям эффективности.

Среда Lowenstein-Jensen Medium with 5% Sodium Chloride содержит указанные выше ингредиенты, а также 80 г хлорида натрия на каждые 600 мл.

Предупреждения и меры предосторожности. Для диагностического использования в условиях *in vitro*.

Пробирки и флаконы с плотными крышками следует открывать осторожно, чтобы не пораниться осколками.

В клинических образцах могут присутствовать патогенные микроорганизмы, в том числе вирус гепатита и вирус иммунодефицита человека (ВИЧ). При работе с любыми предметами, загрязненными кровью и другими биологическими жидкостями, соблюдайте правила, принятые в учреждении, а также стандартные меры предосторожности.¹¹⁻¹⁴ После использования стерилизуйте в автоклаве подготовленные пробирки, контейнеры из-под образцов и другие загрязненные материалы перед утилизацией.

При обработке клинических образцов без образования аэрозолей, например, при подготовке окрашивания мазков кислотоустойчивых штаммов, необходимо использовать изолирующее оборудование и средства биологической защиты, а также применять меры биологической безопасности 2 уровня. Все действия с созданием аэрозолей необходимо проводить в защитном биологическом шкафу класса I или II. При лабораторном размножении и обработке культур *M. tuberculosis* и *M. bovis* необходимо использовать изолирующее оборудование и средства биологической защиты, а также применять меры биологической безопасности 3 уровня. При исследовании животных также требуется соблюдение специальных методик.¹³

Условия хранения. После получения храните пробирки и флаконы в темном месте при температуре 2 – 8 °C. Не допускайте замораживания или перегрева. Открывайте непосредственно перед использованием. Сведите к минимуму воздействие света. Среда, хранящаяся в соответствии с указаниями на этикетке, может быть засеяна до истечения срока годности и выдержана в течение рекомендуемого инкубационного периода. Перед посевом подождите, пока среда нагреется до комнатной температуры.

Разложение продукта. При наличии очевидного бактериального заражения, изменения цвета, высыхания или других признаков разложения продукта не используйте пробирки или флаконы.

VIII ВЗЯТИЕ И ОБРАБОТКА ОБРАЗЦОВ

Подходящие для культивирования образцы можно обрабатывать, используя различные методики. Подробную информацию см. в соответствующих документах.^{15,16} Образцы следует собирать до введения противомикробных средств. Необходимо обеспечить своевременную доставку в лабораторию.

IX МЕТОДИКА

Предоставленные материалы. Среда Левенштейна-Йенсена или среда Левенштейна-Йенсена с 5 % хлорида натрия

Необходимые, но не предоставленные материалы. Требуется дополнительная питательная среда, реагенты, культуры микроорганизмов для контроля качества и лабораторное оборудование.

Методика тестирования. Соблюдайте асептическую методику работы.

Методики тестирования рекомендованы центрами по контролю и профилактике заболеваний США (CDC) для предварительного выделения из образцов, содержащих микобактерии.¹⁰ Рекомендуется использование раствора N-ацетил-L-цистеина и гидроксида натрия (NALC-NaOH) в качестве мягкого, но эффективного растворяющего и деконтаминирующего вещества. Эти реагенты входят в набор для ферментации и деконтаминации микобактериальных образцов **BBL MycoPrep**. Подробные инструкции по деконтаминации и культивированию см. в соответствующих справочных материалах.^{10,16-18}

После посева защищайте тестируемые контейнеры от света и поместите их в соответствующую систему, поддерживающую аэробную атмосферу, обогащенную диоксида углерода. Выдерживайте засеянные скошенные среды и флаконы при температуре $35 \pm 2^\circ\text{C}$.

Скошенные среды и флаконы следует выдерживать горизонтально, пока не абсорбируется посевной материал. В течение первых трех недель пробирки и флаконы с завинчивающейся крышкой следует держать неплотно закрытыми, чтобы инициировать рост путем циркуляции диоксида углерода. Впоследствии для предотвращения обезвоживания плотно закройте крышки; раз в неделю открывайте на короткое время. При недостатке пространства устанавливайте пробирки вертикально.

ПРИМЕЧАНИЕ. Культуры с участков пораженной кожи, предположительно *M. marinum* или *M. ulcerans*, для предварительного выделения следует выдерживать при температуре $25 - 33^\circ\text{C}$; оптимальный рост культур, предположительно содержащих *M. avium* или *M. xenopi*, проявляется при температуре $40 - 42^\circ\text{C}$.¹⁰ Выдерживайте вторую культуру при температуре $35 - 37^\circ\text{C}$.

Для выполнения полуколичественного теста на основе каталазной реакции с использованием агаровых высоких столбиков среды Левенштейна-Йенсена рекомендуется следующая методика.¹⁰

1. Засейте поверхность среды 0,1 мл 7-дневной бульонной культуры или с помощью петли культурой со скошенной среды активно растущих микроорганизмов каждого тестового штамма. Также засейте пробирки культурой с высокой выработкой каталазы, например *M. kansasii*, и штаммом с низким содержанием фермента, например *M. intracellulare*, в качестве контрольных образцов.
2. Выдерживайте с неплотно закрытой крышкой при температуре $35 \pm 2^\circ\text{C}$ в течение 2 недель.
3. Подготовьте смесь полисорбата 80 и пероксида путем смешивания в равных частях следующих ингредиентов.
 - а) Автоклавированный 10-процентный раствор полисорбата 80 в дистиллированной воде или раствор 1 мл стерильного полисорбата 80 в 9 мл дистиллированной воды.
 - б) Пероксид водорода (30 %).
4. Добавьте 1 мл смеси полисорбата 80 и пероксида к каждой культуре. Через 5 минут измерьте высоту (в мм) столбиков пузырьков.

Для выполнения теста на устойчивость к хлориду натрия рекомендуется следующая методика.^{10,17}

1. Мутность суспензии активно растущей субкультуры в бульонной среде в Миддлбрука 7H9 должна соответствовать уровню № 1 по стандарту Макфарланда.
2. Засейте скошенную питательную среду Левенштейна-Йенсена с 5 % хлорида натрия 0,1 мл стандартизованной культуры. Аналогичным образом засейте скошенную среду без хлорида натрия в качестве контрольной пробирки роста.
3. Выдерживайте с неплотно закрытыми крышками в атмосфере, обогащенной CO_2 , сначала в горизонтальном штативе в течение 1 недели при температуре $28 - 30^\circ\text{C}$ (быстрый рост) или при температуре $35 \pm 2^\circ\text{C}$ (медленный рост).
4. Исследуйте рост каждую неделю. При необходимости выдерживайте в течение еще трех недель.

Пользовательский контроль качества. См. раздел «Методики контроля качества».

Все партии среды протестированы с использованием соответствующих микроорганизмов для контроля качества, и данное тестирование соответствует характеристикам продукта и стандартам CLSI, если таковые применимы. Как всегда, проводите тестирование контроля качества в соответствии с применимыми местными законами, законами штата или государственными законами, требованиями аккредитации и (или) методиками контроля качества, принятыми в лаборатории.

X РЕЗУЛЬТАТЫ

Культуры следует изучать в течение 5 – 7 дней после посева и после этого раз в неделю в течение 8 недель.

Запишите результаты наблюдения.

1. Число дней, необходимое для развития колонии до видимых размеров. При быстром росте колонии созревают в течение 7 дней; при медленном росте требуется более 7 дней для образования зрелых колоний.
2. Производство пигмента.
Белый, кремовый или темно-желтый = нехромогенный (НХ).
Лимонный, желтый, оранжевый, красный = хромогенный (Х).

Окрашивание мазков может показать кислотоустойчивые бациллы, которые указываются только как «кислотоустойчивые бациллы», пока не будут выполнены окончательные тесты.

Для исследования флаконов можно перевернуть их при изучении посредством препаровальной лупы. Считывайте результаты с увеличением в 10 – 60 при проходящем свете. Выполните быстрое сканирование на наличие колоний с увеличением в 10 – 20 раз. Более значительное увеличение (в 30 – 60 раз) используется для исследования морфологии колонии, например колоний в виде змеевидных жгутов.

При выполнении полуколичественного теста на основе каталазной реакции большинство микобактерий делится на две группы.^{8,10,16}

1. Высота столбика пузырьков превышает 45 мм.
M. chelonae
M. fortuitum
M. goodii
M. kansasii (клинически значимые)
M. scrofulaceum
2. Высота столбика пузырьков меньше 45 мм.
M. avium
M. bovis
M. gastri
M. haemophilum
M. intracellulare
M. kansasii (клинически значимые)

M. malmoense
M. marinum
M. tuberculosis
M. xenopi

Наличие или отсутствие роста в пробирке со средой, содержащей 5 % хлорида натрия, позволяет дифференцировать микобактериальные изоляты. Результат теста на устойчивость к соли является положительным, если в контрольной среде образуются многочисленные колонии и в среде с содержанием 5 % хлорида натрия отмечен рост более 50 колоний.^{10,17} Результат теста считается отрицательным при наличии колоний в контрольной среде и отсутствии заметного роста в тестовой среде после 4-недельной инкубации.^{10,16,17}

XI ОГРАНИЧЕНИЯ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДИКИ

Для идентификации должны использоваться микроорганизмы чистой культуры. Для окончательной идентификации необходимо выполнять морфологические, биохимические и (или) серологические тесты. Дополнительную информацию и рекомендованные методики см. в соответствующих документах.^{15,16,19}

XII РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Среда Левенштейна-Йенсена

В исследовании Палаца (Palaci) и др., скошенные питательные среды Левенштейна-Йенсена (LJ) и пробирки **BBL MGIT** были засеяны 85 образцами из дыхательных путей по стандартной методике. Двадцать пять (25) образцов дали положительный результат на *M. tuberculosis*. Чувствительность культур при выполнении LJ и **MGIT** составила 96,1 % (25 из 26 «положительных» культур). Хотя время определения результата для пробирок **MGIT** было значительно короче, значительных различий чувствительности теста на *M. tuberculosis* между двумя методами выявлено не было.²⁰

Среда Левенштейна-Йенсена в пробирках с высоким столбиком

Перед выпуском все лоты среды Левенштейна-Йенсена с высоким столбиком тестируются на соответствие специальным характеристикам продукта. Образцы тестируются с использованием *M. fortuitum* ATCC 6841, *M. intracellulare* ATCC 13950, *M. kansasii* ATCC 12478, *M. scrofulaceum* ATCC 19981 и *M. tuberculosis* ATCC 25177 путем посева 0,2 мл суспензий в бульонной среде Миддлбрука 7H9. Пробирки выдерживаются с неплотно закрытыми крышками в течение 3 недель (не более) при температуре 35 – 37 °С. Подготавливается смесь полисорбата 80 и пероксида, и к каждой культуре добавляется 1 мл такой смеси. Через 5 минут измеряется высота (в мм) столбиков пузырьков. Положительная каталазная реакция определяется, если высота столбика пузырьков превышает 45 мм. Отрицательная реакция определяется, если высота столбика пузырьков меньше 45 мм. Положительная каталазная реакция наблюдается для *M. fortuitum*, *M. kansasii* и *M. scrofulaceum*. Отрицательная каталазная реакция наблюдается для *M. intracellulare* и *M. tuberculosis*.

Среда Левенштейна-Йенсена с 5 % хлорида натрия

Перед выпуском все лоты среды Левенштейна-Йенсена с 5-процентным раствором хлорида натрия тестируются на соответствие специальным характеристикам продукта. Тестирование образцов выполняется с использованием суспензий клеточных культур *M. fortuitum* ATCC 6841 и *M. kansasii* ATCC 12478, растворенных в бульоне Миддлбрука 7H9 **BBL** с уровнем инокуляции $10^3 - 10^4$ КоЕ. Пробирки с открытыми крышками выдерживаются при температуре 35 – 37 °С в течение 7 – 14 дней в атмосфере, обогащенной CO₂. Наблюдается средний и высокий рост для *M. fortuitum*. *M. kansasii* ингибируется.

XIII НАЛИЧИЕ

№ по кат.	Описание
221116	BD BBL Lowenstein-Jensen Medium Mycoflask , 100 флаконов в упаковке
220908	BD BBL Lowenstein-Jensen Medium Slants, 10 пробирок размера А в упаковке
220909	BD BBL Lowenstein-Jensen Medium Slants, 100 пробирок размера А в упаковке

XIV СПРАВОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- Lowenstein, E. 1931. Die Zachtung der Tuberkelba zillen aus dem stramenden Blute. Zentralbl. Bakteriол. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt. I Orig. 120:127.
- Lowenstein, E. 1933. Der kulturelle Nacheweis 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-bazillus. Zentralbl. Bakteriол. 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 Typenbestim mung von Tuberkelbazillentammen. Zentralbl. Bakteriол. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt. I Orig. 125:222-239.
- Wayne, L.G. 1962. Two varieties of *Mycobacterium kanasii* 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.

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.

Служба технической поддержки BD Diagnostics: обращайтесь к местному представителю компании BD или на сайт 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