



KALİTE KONTROLÜ PROSEDÜRLERİ (İsteğe Bağlı)

I GİRİŞ

Lowenstein-Jensen Medium (Lowenstein-Jensen Besiyeri), mikrobakterilerin izolasyonu ve kültürasyonu için kullanılır. Tüplere koyulmuş besiyeri, mikrobakterilerin sınıflandırılmasına yardımcı olarak yarı kantitatif katalaz testi için kullanılır.

II PERFORMANS TESTİ PROSEDÜRÜ

A. İnokulum Hazırlık Prosedürü

1. Steril inokülasyon çubuklarını kullanarak Lowenstein-Jensen Medium slantları ilgili mikrobakteriyel suşların stok kültürleri ile inokule edin.
2. Yoğun bir gelişim elde edilene kadar (genellikle 2 - 3 hafta içerisinde) tüpleri kapakları gevşek bir halde karbondioksitçe zenginleştirilmiş aerobik atmosferde 35 ± 2 °C'de inkübe edin.
3. Hücre hasadı ile birlikte kültür besiyerini almamaya dikkat ederek hücreleri besiyerinin yüzeyinden yavaşça alıp gelişimi steril kesinleştirilmiş bir aplikatör çubuk ile hasatlayın.
 - a. *Mycobacterium tuberculosis* ATCC 25177 için:
 - (1) Gelişimi, steril cam kristalleri içeren steril vida kapaklı cam bir tüpte 5,0 mL Middlebrook 7H9 Broth with Glycerol'e aktarın.
 - (2) Süspansiyonu büyük pihtılar yok olana kadar iyice vorteksleyin (birkaç dakika).
 - (3) Bu süspansiyonu McFarland No 1 nefelometre standartı ile kıyaslayın. Süspansiyon standarttan daha bulanık olmalıdır.
 - (4) Tüpü bir rafta oda sıcaklığında 2 - 3 s boyunca bekleterek büyük partiküllerin dibe çökmesini sağlayın.
 - (5) Süpernatantı steril bir kaba aktarın.
 - (6) Yavaşça steril Middlebrook 7H9 Broth with Glycerol ekleyerek süspansiyonun türbiditesini McFarland No. 1 standartına ayarlayın. İyice çalkalayın.
 - (7) Kullanmadan önce 10^5 CFU/mL'ye seyreltin. İyice karıştırın ve 0,01 mL kalibre edilmiş öze kullanarak test besiyerini sürme yöntemi ile inokule edin.
 - b. Diğer tüm mikrobakteriyel suşlar için:
 - (1) Gelişimi, 8 – 12 sterİL cam kristal (2 mm çapında) ve aşağıdaki şekilde hazırlanmış 5 mL Mycobacterium Diluent içeren steril 50 mL vida kapaklı santrifüj tüپune aktarın.
 - Aşağıdaki içeriği 1 L şişe içerisinde karıştırın ve 1 N sodyum hidroksit kullanarak pH değerini 6,7 ila 7,0'ye ayarlayın.

| | |
|------------------------------------|--------|
| Siğır Albümüni (yağ asitsiz) | 1,0 g |
| Polisorbat 80..... | 0,1 mL |
| Saf Su..... | 500 mL |

 - Membran filtrasyonu ile sterilize edin (0,2 μ filtre)
 - 5,5 mL'lik miktarları aseptik olarak steril vida kapaklı tüplere koyn.
 - (2) Bir aplikatör çubuk kullanarak vida kapaklı santrifüj tüپünün yan duvarına mikrobakteriyel gelişimi emülsifiye edin. Gelişimi seyreltim sıvısı ile karıştırın.
 - (3) Tüpü kapatın ve gelişim büyük pihtılardan arınıp iyice süspanse olana kadar yaklaşık 10 dakika "vorteksleyin".
 - (4) 15 mL sterİL Mycobacterium Diluent ekleyin ve iyice karıştırın.
 - (5) Bu süspansiyonu McFarland No 1 nefelometre standartı ile kıyaslayın. Süspansiyon standarttan daha bulanık olmalıdır.
 - (6) Tüpü bir rafta oda sıcaklığında 2 – 3 s boyunca bekleterek büyük partiküllerin dibe çökmesini sağlayın.
 - (7) Süpernatantı çekin ve steril bir kaba aktarın. Süspansiyon bir McFarland No. 1 standartından daha bulanık olmalıdır ve büyük partiküler içermemelidir. Hala büyük partiküler mevcutsa, karıştırın ve 1 s daha bekletin. Süpernatantı steril bir kaba aktarın.
 - (8) Yavaşça sterİL Mycobacterium Diluent ekleyerek süspansiyonun türbiditesini McFarland No 1 standartına ayarlayın. İyice çalkalayın.

- (9) Süspansiyon miktarlarını, organizma kimliğini ve hazırlama tarihini belirtecek şekilde etiketlenen dondurucu flakonlara koyun.
- (10) Flakonları -60 °C'de derin dondurucuya koyarak dondurun. Flakonlar 6 aya kadar saklanabilir.
- (11) Kullanmak için, donmuş flakonu dondurucudan çıkarın ve tüpü 30 ila 35 °C su banyosuna yerleştirerek içeriği hızla eritin. Kullanmadan önce 10⁵ CFU/mL'ye seyreltin. İyice karıştırın ve 0,01 mL kalibre edilmiş öze kullanarak test besyerini sürme yöntemi ile inoküle edin.

B. Besiyeri Test Etme Prosedürleri

Lowenstein-Jensen Medium Kapları

1. Uç yüzeyleri tek kullanımlık steril 0,01 mL inokülasyon özesi ile yukarıda açıklanan şekilde hazırlanan kültürleri kullanarak inoküle edin.
2. Tüpleri kapakları gevşek bir halde 35 ± 2 °C'de karbondioksit ile zenginleştirilen aerobik atmosferde inkübe edin.
3. 14 günlük inkübasyondan sonra, her kültüre aşağıdaki şekilde hazırlanan 1,0 mL polisorbat 80-peroksit karışımı ekleyin:
 - a. %30 hidrojen peroksit. Buzdolabında saklayın.
 - b. %10 polisorbat 80 aşağıdaki şekilde hazırlanır:
 - (1) 10 mL polisorbat 80'i 90 mL saf su ile karıştırın.
 - (2) 121 °C'de 10 dakika otoklavlayın.
 - (3) Buzdolabında saklayın.
 - c. Testi gerçekleştirmeden hemen önce, iki çözeltiden eşit miktarlarda karıştırın.
4. Kültürleri dik konumda 5 dakika oda sıcaklığında bekletin.
5. Besiyerinin yüzeyinin üzerindeki kabarcık kolonunun yüksekliğini ölçün (mm).
6. Beklenen Sonuçlar

Yüksekliği 45 mm'den fazla olan kabarcık kolonu.

**Mycobacterium kansasii*, Grup I

ATCC 12478

Mycobacterium scrofulaceum, Grup II

ATCC 19981

Mycobacterium fortuitum, Grup IV

ATCC 6841

Yüksekliği 45 mm'den az olan kabarcık kolonu.

**Mycobacterium tuberculosis* H37Ra

ATCC 25177

Mycobacterium intracellulare, Grup III

ATCC 13950

*Kullanıcı Tarafından Kalite Kontrolü için tavsiye edilen organizma.

Lowenstein-Jensen Medium Slantları ve Şişeleri

1. Aşağıda listelenen kültürler ile temsili örnekleri inoküle edin.
 - a. Steril tek kullanımlık 0,01 mL kalibre edilmiş özeler ile, yukarıda açıklandığı şekilde hazırlanan mikrobakteriyel kültürleri kullanarak slantları veya şişeleri inoküle edin.
 - b. Kapları, kapakları gevşek bir halde 35 ± 2 °C'de karbondioksit ile zenginleştirilen aerobik atmosferde inkübe edin.
2. 7, 14 ve 21 gün sonra tüpleri veya şişeleri gelişim, seçicilik ve pigmentasyon açısından inceleyin.
3. Beklenen Sonuçlar
 - a. Lowenstein-Jensen Medium için

| CLSI Organizmaları | ATCC | Geri Kazanım |
|--|-------------|---------------------|
| * <i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Ra | 25177 | Gelişim |
| * <i>Mycobacterium kansasii</i> , Grup I | 12478 | Gelişim |
| * <i>Mycobacterium scrofulaceum</i> , Grup II | 19981 | Gelişim |
| * <i>Mycobacterium intracellulare</i> , Grup III | 13950 | Gelişim |
| * <i>Mycobacterium fortuitum</i> , Grup IV | 6841 | Gelişim |

- b. Lowenstein-Jensen Medium with 5% Sodium Chloride (%5 Sodyum Klorür içeren Lowenstein-Jensen Besiyeri)

| Organizmalar | ATCC | Geri Kazanım |
|----------------------------------|-------|--------------|
| * <i>Mycobacterium fortuitum</i> | 6841 | Gelişim |
| * <i>Mycobacterium kansasii</i> | 12478 | Gelişim yok |

*Kullanıcı Tarafından Kalite Kontrolü için tavsiye edilen organizma.

III EK KALİTE KONTROLÜ

1. Tüp veya şişeleri “Ürünün Bozulması” altında tanımlandığı şekilde inceleyin.
2. Mevcut olan herhangi bir fiziksel bozukluğun kullanımını etkilemeyeceğinden emin olmak için temsili tüp veya şişeleri görsel olarak inceleyin.
3. $7,0 \pm 0,2$ spesifikasyonuna uyması için pH değerini oda sıcaklığında potansiyometrik olarak belirleyin.
4. İnoküle edilmemiş temsili tüp veya şişeleri $20 - 25^{\circ}\text{C}$ ve $30 - 35^{\circ}\text{C}$ 'de inkübe edin ve 7 ve 14 gün sonra mikrobiyal kontaminasyon açısından inceleyin.

ÜRÜN BİLGİLERİ

IV KULLANIM AMACI

Lowenstein-Jensen Medium, *Mycobacterium tuberculosis* ve diğer mikobakteriyel türlerin kültivasyonu için kullanılır.

V ÖZET VE AÇIKLAMA

Lowenstein orijinal olarak, mikobakterilerin kültivasyonu amaçlı, diğer bakterilerin kısmen inhibisyonu için kongo kırmızısı ve malakit yeşilinin birleştirildiği bir besiyeri formülü etmiştir.^{1,2} Bu boyalar diğer araştırmacılar, özellikle Sonnenschein³ ve Hohn⁴ tarafından benzer şekilde kullanılmıştır. Amerika Birleşik Devletleri'nde Corper⁵ ve Petroff'un⁶ kantaron moru besiyerinin yanı sıra malakit yeşili içeren Petragnani besiyeri popülerdir. Jensen⁷ tarafından geliştirilen mevcut formül, biraz farklı bir sitrat ve fosfat içeriğine sahiptir, kongo kırmızısı içermez ve daha fazla malakit yeşili konsantrasyonuna sahiptir.

BBL tarafından hazırlanan Lowenstein-Jensen Medium ürünleri, *Mycobacterium* türlerinin kültivasyonunda genel kullanım için tüp slantları, daha fazla yüzey alanı istendiğinde kullanmak için şişeler ve yarı-kantitatif katalaz testinin gerçekleştirilmesi için tüp kapları içerir. Bu son prosedür Wayne⁸ tarafından geliştirilmiştir ve mikobakterilerin sınıflandırılmasında faydalıdır.

Ayrıca, %5 sodyum klorürü toler edebilme mikobakterilerin belirli suşlarının (örn., *M. fortuitum* ve *M. chelonae* subsp. *abscessus*) bir özelliği olduğundan %5 sodyum klorür eklenmiş besiyeri mevcuttur.⁹ En hızlı gelişenler, yavaş gelişen *M. triviale* ve *M. Flavescens*'in bazı suşları da NaCl içeren besiyerinde gelişir. *M. chelonae* subsp. *chelonae*'nın gelişmemesi, bunun *M. fortuitum* kompleksinin diğer üyelerinden (örn., *M. chelonae* subsp. *abscessus*) ayırt edilmesinde yardımcı olur.^{9,10}

VI PROSEDÜR İLKELERİ

Lowenstein-Jensen Medium Base, mikobakterilerin gelişimini desteklemek için ekleme gerektiren gørece basit bir formülyasyondur. Yoğunlaştırma işleminden önce gliserol ve yumurta karışımı eklenir. Bu maddeler, mikobakterilerin metabolizması için gerekli yağ asitleri ve proteini sağlar. Sterilizasyon sırasında yumurta albümünün koagülasyonu inokülasyon için katı bir besiyeri sağlar.

VII REAKTİFLER

Lowenstein-Jensen Medium

600 mL Saf Su için Yaklaşık Formülü*

| | | | |
|---------------------------|--------|----------------------|-----------|
| Monopotasyum Fosfat | 2,5 g | Patates Unu | 30,0 g |
| Magnezyum Sulfat | 0,24 g | Malakit Yeşili | 0,4 g |
| Sodyum Sitrat | 0,6 g | Gliserol..... | 12,0 mL |
| L-Asparajin | 3,6 g | Tüm Yumurta | 1000,0 mL |

*Performans kriterlerini karşılamak üzere gereken şekilde ayarlanmış ve/veya desteklenmiştir.

Lowenstein-Jensen Medium with 5% Sodium Chloride, 600 mL'de 80 g sodyum klorür ile yukarıdaki bileşenleri içerir.

Uyarılar ve Önlemler: *In vitro* Diyagnostik Kullanım içindir.

Sıkılmış kapaklı tüpler ve şişeler, camın kırılmasına bağlı yaralanmaları önlemek için dikkatli bir şekilde açılmalıdır.

Klinik örneklerde hepatit virüsü ve İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü de dahil olmak üzere patojenik mikroorganizmalar bulunabilir. Kan veya diğer vücut sıvılarıyla kontamine olan tüm öğelerle çalışılırken, "Standart Önlemler"¹¹⁻¹⁴ ve kurumsal düzenlemeler takip edilmelidir. Kullanıldan sonra, hazırlanan tüpler, örnek kapları ve diğer kontamine olmuş malzemeler atılmadan önce otoklavlanarak sterilize edilmelidir.

Aside dirençli smear'ların hazırlanması gibi klinik örneklerin aerosol üretmeyen işlemleri sırasında Biyogüvenlik Seviyesi 2 uygulamaları ve prosedürleri, saklama ekipman ve tesisleri kullanılmalıdır. Aerosol üreten tüm aktiviteler, Sınıf I veya II biyolojik güvenlik kabininde gerçekleştirilmelidir. *M. tuberculosis* ve *M. bovis* kültürlerinin hazırlanması ve manipülasyonundaki laboratuvar faaliyetleri için Biyolojik Güvenlik Düzeyi 3 uygulamaları, izolasyon ekipmanları ve araçları gereklidir. Hayvan çalışmaları da özel prosedürler gerektirir.¹⁵

Saklama Talimatları: Alındıktan sonra, tüpleri ve şişeleri karantıkta 2 ila 8 °C'de saklayın. Dondurmaktan ve fazla ısıtmaktan kaçının. Kullanıma hazır olana kadar açmayın. Işığa maruz kalmamasını sağlayın. Kullanım öncesine kadar etikette belirtildiği şekilde saklanan besiyeri son kullanma tarihine kadar inokule edilebilir ve önerilen inkübasyon sürelerinde inkübe edilebilir. Besiyerinin inokülasyon öncesinde oda sıcaklığına gelmesini bekleyin.

Ürünün Bozulması: Mikrobiyal kontaminasyon belirtileri, renk değişimi, kuruma veya diğer bozulma belirtileri görmeniz halinde tüpleri ve şişeleri kullanmayın.

VIII ÖRNEK TOPLAMA VE İŞLEME

Kültür için uygun örnekler çeşitli teknikler kullanılarak işlenebilir. Ayrıntılı bilgi için ilgili metinlere bakın.^{15,16} Örnekler, antimikrobiyal ajanlar verilmeden önce alınmalıdır. Örneklerin laboratuvara hızlı bir şekilde ulaştırılması için gerekli düzenlemeler yapılmalıdır.

IX PROSEDÜR

Sağlanan malzemeler: Lowenstein-Jensen Medium veya Lowenstein-Jensen Medium with 5% Sodium Chloride

Gerekli fakat sağlanmamış malzemeler: Yardımcı kültür besiyeri, reaktifler, kalite kontrolü organizmaları ve gerekli laboratuvar ekipmanı.

Test Prosedürü: Aseptik teknikleri uygulayın.

Test prosedürleri, mikrobakteri içeren örneklerden birincil izolasyon için Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri (CDC) tarafından önerilenlerdir.¹⁰ N-asetil-L-sistin-sodyum hidroksit (NALC-NaOH) çözeltisi hafif fakat etkili bir sindirim ve dekontaminasyon ajanı olarak tavsiye edilmektedir. Bu reaktifler, **BBL MycoPrep** Mycobacterial Specimen Digestion/Decontamination Kit içerisinde sağlanmıştır. Detaylı dekontaminasyon ve kültür oluşturma talimatları için ilgili referanslara bakın.^{10,16-18}

İnokülasyonu takiben, test kaplarını ışık almayan bir yerde bekletin ve karbondioksit ile zenginleştirilmiş aerobik bir atmosfer sağlayan uygun bir sisteme yerleştirin. Inokule edilmiş slantları ve şişeleri 35 ± 2 °C'de inkübe edin.

Slant ve şiselere koymuş besiyerileri, inokulum absorbe olana kadar yatay düzlemede inkübe edilmelidir. Tüp ve şiselere vida kapakları, gelişmenin başlaması için karbondioksitin dolaşımına izin vermek için ilk 3 hafta gevşek bırakılmalıdır. Sonrasında, dehidrasyonu önlemek için, kapakları sıkıştırın; haftada bir defa kısa bir süre için gevşek bırakın. Boş alan problemi yaşıyorsanız tüpleri dik konumda bırakın.

NOT: Deri lezyonlarından alınan *M. marinum* veya *M. ulcerans* olduğundan şüphelenilen kültürler birincil izolasyon için 25 ila 33 °C'de inkübe edilmelidir; *M. avium* veya *M. xenopi* içerdiginden şüphelenilen kültürler 40 ila 42 °C'de optimum gelişme gösterirler.¹⁰ 35 ila 37 °C'de iki kültür inkübe edin.

Lowenstein-Jensen Medium agar kapları kullanılarak gerçekleştirilen yarı-kantitatif katalaz testi için tavsiye edilen prosedür aşağıdaki gibidir:¹⁰

1. Besiyerinin yüzeyini, her test suşunun 0,1 mL 7 günlük broth kültürü veya aktif olarak gelişen slanttan bir öze dolusu gelişim ile inokule edin. Aynı zamanda, tüpleri güclü katalaz üreten bir kültür örn., *M. kansasii* ve kontrol olarak zayıf bir enzim suşu örn., *M. intracellulare* ile inokule edin.
2. Kapakları gevşek bir halde 35 ± 2 °C'de 2 hafta inkübe edin.
3. Aşağıdakilerden eşit miktarlarda karıştırarak bir polisorbat 80-peroksit karışımı hazırlayın:
 - a. Distile su içerisinde otoklavlanmış %10 polisorbat 80 çözeltisi veya 9 mL distile su içerisinde 1 mL steril polisorbat 80 seyreltimi.
 - b. Hidrojen peroksit (%30).
4. Her kültüre 1 mL polisorbat 80-peroksit karışımı ekleyin. 5 dakika sonra, kabarcık kolonunda yüksekliği mm cinsinden kaydedin.

Sodyum klorür tolerans testi için önerilen prosedür aşağıdaki gibidir:^{10,17}

1. McFarland no. 1 türbidite standardına eşit Middlebrook 7H9 Broth içerisinde aktif olarak gelişen bir süspansiyon hazırlayın.
2. 0,1 mL standarize kültürü Lowenstein-Jensen Medium with 5% Sodium Chloride slantına inokule edin. Benzer şekilde, gelişim kontrol tüpü olarak NaCl içermeyen bir besiyeri slantını inokule edin.

3. Kapakları gevşek bir halde CO₂'çe zengin bir atmosferde, başlangıçta düz bir rafta, hızlı gelişenler için 28 ila 30 °C'de ve yavaş gelişenler için 35 ± 2 °C'de inkübe edin.
4. Her hafta gelişim açısından inceleyin. Gerekli ise üç hafta daha inkübasyona devam edin.

Kullanıcı tarafından Kalite Kontrolü: "Kalite Kontrol Prosedürleri"ne bakın.

Her bir ortam lotu uygun kalite kontrol organizmaları kullanılarak test edilmiştir; bu test, ürünün teknik özelliklerini ve ilgili olduğu yerlerde CLSI standartlarını karşılamaktadır. Her zamanki gibi gerekli kalite kontrolleri ilgili yerel, resmi, federal düzenlemelere veya ülke düzenlemelerine, akreditasyon gerekliliklerine ve/veya laboratuvarınızın standart kalite kontrol prosedürlerine uygun olarak gerçekleştirilmelidir.

X SONUÇLAR

Kültürler inkülasyondan sonra 5 ila 7 gün içerisinde ve sonrasında 8 haftaya kadar haftada bir kez okunmalıdır. Gözlemleri Kaydedin:

1. Kolonilerin makroskopik olarak görünür hale gelmesi için gerekli gün sayısı. Hızlı gelişenler 7 gün içerisinde olgun kolonilere sahip olurken; yavaş gelişenler olgun koloni oluşması için 7 günden fazla süreye ihtiyaç duyular.
2. Pigment üretimi
Beyaz, krem veya deri rengi = Kromojenik olmayan (NC)
Limon, sarı, turuncu, kırmızı = Kromojenik (Ch)

Boyanmış smear'lar, tanımlayıcı testler gerçekleştirilmekçe yalnızca "aside dirençli basil" olarak bildirilen aside dirençli basil gösterebilir.

Şişeler bir diseksiyon mikroskopu zemininde ters çevrilerek incelenebilir. İletilen ışık ile 10 - 60x büyütmede okuma yapın. Kolonilerin varlığı açısından 10 - 20x büyütmede hızla tarama yapın. Koloni morfolojisini yanı, serpentin lifsi kolonilerini gözleme mede daha yüksek büyütme (30 - 60x) faydalıdır.

Yarı-kantitatif katalaz testinde, çoğu mikobakteri iki gruba ayrılır.^{8,10,16}

1. Yüksekliği 45 mm'den fazla olan kabarcık kolonu.

M. chelonae
M. fortuitum
M. gordoneae
M. kansasii (klinik açıdan önemli)
M. scrofulaceum

2. Yüksekliği 45 mm'den az olan kabarcık kolonu.

M. avium
M. bovis
M. gastri
M. haemophilum
M. intracellulare
M. kansasii (klinik açıdan ömensiz)
M. malmoense
M. marinum
M. tuberculosis
M. xenopi

%5 NaCl içeren besiyeri tüpünde gelişim varlığı veya yokluğu, mikobakteriyel izolatların ayırt edilmesine yardımcı olur. Kontrol besiyerinde çeşitli koloniler göründüğünde tuz tolerans testi pozitiftir ve %5 NaCl içeren besiyerinde 50'den fazla koloni gelişir.^{10,17} Kontrol besiyerinde koloni bulunması, fakat toplam 4 hafta inkübasyondan sonra test besiyerinde görünür gelişim olmaması negatif testi oluşturur.^{10,16,17}

XI PROSEDÜRÜN KISITLI OLDUĞU ALANLAR

Teşhis için, organizma saf kültürde bulunmalıdır. Nihai teşhis için morfolojik, biyokimyasal ve/veya serolojik testler gerçekleştirilmelidir. Detaylı bilgiler ve tavsiye edilen prosedürler için ilgili metinlere bakın.^{15,16,19}

XII PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

Lowenstein-Jensen Medium

Palaci ve ekibi tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, 85 solunum örneği standart prosedürlere göre Lowenstein-Jensen (LJ) slantlara ve **BBL MGIT** tüplere inoküle edilmiştir. Yirmi beş (25) örnek *M. tuberculosis* için pozitif bulunmuştur. Hem LJ hem de MGIT için kültür duyarlılığı %96,1'dir (26 pozitif kültürden 25'i). MGIT tüplerinde saptama süresi önemli ölçüde daha kısa olmasına rağmen, iki yöntem arasında *M. tuberculosis* saptanmasının duyarlılığı açısından önemli bir farklılık yoktur.²⁰

Lowenstein-Jensen Medium Kapları

Piyasaya sürülmeden önce tüm Lowenstein-Jensen Medium Deep lotları belirli ürün karakteristikleri açısından test edilir. Örnekler, 0,2 mL Middlebrook 7H9 Broth süspansiyonu ile inoküle edilerek *M. fortuitum* ATCC 6841, *M. intracellulare* ATCC 13950, *M. kansasii* ATCC 12478, *M. scrofulaceum* ATCC 19981 ve *M. tuberculosis* ATCC 25177 ile test edilmiştir. Tüpler, kapakları gevşek bir halde 3 haftaya kadar 35 ila 37 °C'de inkübe edilir. Bir polisorbat 80-peroksit karışımı hazırlanır ve her kültüre 1 mL eklenir. 5 dakika sonra, kabarcık kolonunun yüksekliği mm cinsinden kaydedilir. Pozitif bir katalaz reaksiyonu yüksekliği 45 mm'den daha fazla olan kabarcık kolonudur. Negatif reaksiyon yüksekliği 45 mm'den az olan kabarcık kolonudur. Pozitif katalaz reaksiyonu *M. fortuitum*, *M. kansasii* ve *M. scrofulaceum* ile gözlenmiştir. *M. intracellulare* ve *M. tuberculosis* negatif bir katalaz reaksiyonu ile gözlenmiştir.

Lowenstein-Jensen Medium with 5% Sodium Chloride

Piyasaya sürülmeden önce tüm Lowenstein-Jensen Medium with 5% Sodium Chloride lotları belirli ürün karakteristikleri açısından test edilir. Örnekler, 10^3 - 10^4 CFU verecek şekilde BBL Middlebrook 7H9 Broth içerisinde seyreltilen *M. fortuitum* ATCC 6841 ve *M. kansasii* ATCC 12478 hücre süspansiyonları ile test edilmiştir. Tüpler, 7 ila 14 gün boyunca 35 ila 37 °C'de CO₂ açısından zengin bir atmosferde kapakları gevşek bir halde inkübe edilir. *M. fortuitum* ile orta ile yoğun bir gelişim gözlenir. *M. kansasii* inhibe edilir.

XIII TİCARİ TAKDİM ŞEKLİ

Kat. No. Açıklama

- | | |
|--------|--|
| 221116 | BD BBL Lowenstein-Jensen Medium Mycoflask , 100'lü şişe kutusu |
| 220908 | BD BBL Lowenstein-Jensen Medium Slants, 10'lu boyut A tüp paketi |
| 220909 | BD BBL Lowenstein-Jensen Medium Slants, 100'lü boyut A tüp kutusu |

XIV REFERANSLAR

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 Malachitgrün Einahrboden. Ann. Inst. Pasteur. 50:161.
3. Sonnenschein. 1930. Dtsch. tierarztl. Wehnschr. 38:115.
4. Hohn, J. 1931. Der Z-Einahrboden zur Kultur des Tuberkel-bazillus. 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. Yolken (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 Teknik Desteği: yerel BD temsilcinizle temasla geçin veya www.bd.com/ds adresine başvurun.



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