

## I ВСТУП

Lowenstein-Jensen Medium (Середовище Левенштейна – Єнсена) використовується для виділення й культивування мікобактерій. Середовище в пробірках, розлите високими стовпчиками, використовується в напівкількісному тесті на основі каталазної реакції як допоміжний засіб класифікації мікобактерій.

## II ПРОЦЕДУРА ТЕСТУВАННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ

### A. Процедура приготування інокулятів

1. За допомогою стерильних паличок для посіву інокулюйте скошені середовища Левенштейна – Єнсена вихідними культурами відповідних штамів мікобактерій.
2. Інкубуйте пробірки з нещільно закритими кришками в аеробній атмосфері, збагаченій діоксидом вуглецю, при температурі  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  до проявів активного росту бактерій (зазвичай протягом 2 – 3 тижнів).
3. Зберіть культуру за допомогою стерильного загостреного аплікатора, акуратно знімаючи клітинну масу з поверхні середовища. Під час збору клітинної маси не захоплюйте поживне середовище.
  - a. Методика для *Mycobacterium tuberculosis* ATCC 25177
    - (1) Помістіть культуру в 5,0 мл бульйону Міддлбрука 7H9 з гліцерином (Middlebrook 7H9 Broth with Glycerol) у стерильній скляній пробірці з гвинтовою кришкою, яка містить стерильні скляні гранули.
    - (2) Перемішайте за допомогою струшувача (протягом кількох хвилин), щоб у суспензії не залишилося великих грудок.
    - (3) Порівняйте суспензію зі стандартом Мак-Фарланда №1 за допомогою нефелометра. Суспензія має бути каламутнішою, ніж стандарт.
    - (4) Помістіть пробірку в штатив на 2 – 3 години та дайте відстоятися при кімнатній температурі, щоб великі частки осіли на дно.
    - (5) Перелийте надосадову рідину в стерильний контейнер.
    - (6) Доведіть мутність суспензії до стандарту Мак-Фарланда №1, повільно додаючи стерильний бульйон Міддлбрука 7H9 із гліцерином. Добре струсіть.
    - (7) Перед використанням розведіть до концентрації  $10^5$  КУО/мл. Добре перемішайте та засійте штрихами тестове середовище, використовуючи калібровану петлю на 0,01 мл.
  - b. Методика для всіх інших штамів мікобактерій
    - (1) Помістіть культуру в стерильну центрифужну пробірку з гвинтовою кришкою об'ємом 50 мл, яка містить 8 – 12 стерильних скляних гранул (діаметром 2 мм) і 5 мл розчинника для мікобактерій, приготованого, як описано нижче.
      - Змішайте вказані нижче інгредієнти в колбі об'ємом 1 л. Використовуючи 1 н розчин гідроксиду натрію, відрегулюйте рівень pH до значення 6,7 – 7,0.
      - Альбумін бичачої сироватки (без жирних кислот) ..... 1,0 г
      - Полісорбат 80..... 0,1 мл
      - Очищена вода ..... 500 мл
      - Простерилізуйте фільтруванням крізь мікропористу мембрану (фільтр 0,2 мкм).
      - В асептичних умовах розлийте по 5,5 мл в стерильні пробірки з гвинтовими кришками.
    - (2) Використовуючи аплікатор, емульгуйте мікобактеріальну культуру на бічній стінці центрифужної пробірки з гвинтовою кришкою. Змішайте культуру з розчинником.
    - (3) Закрийте пробірку кришкою та перемішайте в струшувачі протягом приблизно 10 хвилин, доки в суспензії культури не зникнуть великі грудки.
    - (4) Додайте 15 мл стерильного розчинника для мікобактерій і ретельно перемішайте.
    - (5) Порівняйте суспензію зі стандартом Мак-Фарланда №1 за допомогою нефелометра. Суспензія має бути каламутнішою, ніж стандарт.
    - (6) Помістіть пробірку в штатив на 2 – 3 години та дайте відстоятися при кімнатній температурі, щоб великі частки осіли на дно.
    - (7) Аспіруйте надосадову рідину та перелийте її в стерильний контейнер. Суспензія має бути каламутнішою, ніж стандарт Мак-Фарланда №1, і не містити великих часток. Якщо великі частки досі помітні, перемішайте та дайте відстоятися ще протягом 1 години. Перелийте надосадову рідину в стерильний контейнер.
    - (8) Доведіть мутність суспензії до стандарту Мак-Фарланда № 1, повільно доливаючи стерильний розчинник для мікобактерій. Добре струсіть.
    - (9) Перед розміщенням у морозильній камері розлийте аліквоти суспензії у флакони з етикетками, що містять дані ідентифікації мікроорганізму та дату приготування.
    - (10) Заморозьте суспензії, помістивши флакони в морозильну камеру при температурі  $-60^\circ\text{C}$ . Флакони можуть зберігатися до 6 місяців.
    - (11) Для використання вийміть заморожений флакон із морозильної камери й швидко розморозьте вміст, помістивши пробірку у водяну баню при температурі  $30 - 35^\circ\text{C}$ . Перед використанням розведіть до концентрації  $10^5$  КУО/мл. Добре перемішайте та засійте штрихами тестове середовище, використовуючи калібровану петлю на 0,01 мл.

## В. Процедури тестування середовища

### Lowenstein-Jensen Medium Deeps (середовище Левенштейна – Єнсена, розлите високими стовпчиками)

1. За допомогою стерильної одноразової інюляційної петлі на 0,01 мл засійте поверхні стовпчиків середовища культурами бактерій, приготованими описаним вище способом.
2. Інкубуйте пробірки з нещільно закритими кришками в аеробній атмосфері, збагаченій діоксидом вуглецю, при температурі  $35 \pm 2^\circ\text{C}$ .
3. Через 14 днів після початку інкубації додайте до кожної з культур по 1,0 мл суміші полісорбату 80 і пероксиду, приготованої за описаною нижче рецептурою.
  - a. 30-процентний розчин пероксиду водню. Зберігайте в холодильнику.
  - b. 10-процентний розчин полісорбату 80, приготований таким чином:
    - (1) змішайте 10 мл полісорбату 80 і 90 мл очищеної води;
    - (2) автоклавуйте при температурі  $121^\circ\text{C}$  протягом 10 хв.;
    - (3) зберігайте в холодильнику.
  - c. Безпосередньо перед початком тестування змішайте рівні частини двох розчинів.
4. Залиште пробірки з культурами у вертикальному положенні при кімнатній температурі на 5 хв.
5. Виміряйте (в мм) висоту стовпчика бульбашок над поверхнею середовища.
6. Очікувані результати

#### Висота стовпчика бульбашок перевищує 45 мм.

*Mycobacterium kansasii*, група I  
ATCC 12478

*Mycobacterium scrofulaceum*, група II  
ATCC 19981

*Mycobacterium fortuitum*, група IV  
ATCC 6841

#### Висота стовпчика бульбашок не сягає 45 мм.

*Mycobacterium tuberculosis* H37Ra  
ATCC 25177

*Mycobacterium intracellulare*, група III  
ATCC 13950

\*Штам мікроорганізму, рекомендований для користувацького контролю якості.

### Lowenstein-Jensen Medium Slants (скошене середовище Левенштейна – Єнсена) і Lowenstein-Jensen Medium Bottles (флакони із середовищем Левенштейна – Єнсена)

1. Засійте показові зразки середовища вказаними нижче культурами мікроорганізмів.
  - a. За допомогою стерильних одноразових петель із калібром 0,01 мл інюлюйте скошені середовища або середовища у флаконах культурами мікобактерій, приготованими описаним вище способом.
  - b. Інкубуйте контейнери з нещільно закритими кришками в аеробній атмосфері, збагаченій діоксидом вуглецю, при температурі  $35 \pm 2^\circ\text{C}$ .
2. На 7, 14 і 21 добу перевіряйте пробірки на наявність росту мікроорганізмів, селективності та пігментації.
3. Очікувані результати
  - a. Для середовища Левенштейна – Єнсена (Lowenstein-Jensen Medium)

#### Мікроорганізми CLSI

*Mycobacterium tuberculosis* H37Ra

*Mycobacterium kansasii*, група I

*Mycobacterium scrofulaceum*, група II

*Mycobacterium intracellulare*, група III

*Mycobacterium fortuitum*, група IV

#### ATCC

25177

12478

19981

13950

6841

#### Виділення

Ріст

Ріст

Ріст

Ріст

Ріст

- b. Для середовища Левенштейна – Єнсена з 5 % хлориду натрію (Lowenstein-Jensen Medium with 5% Sodium Chloride)

#### Мікроорганізми

*Mycobacterium fortuitum*

*Mycobacterium kansasii*

#### ATCC

6841

12478

#### Виділення

Ріст

Немає росту

\*Штам мікроорганізму, рекомендований для користувацького контролю якості.

## III ДОДАТКОВИЙ КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

1. Огляньте пробірки або флакони на наявність ознак псування, описаних у розділі «Псування продукту».
2. Візуально перевірте репрезентативні пробірки або флакони, щоб упевнитися у відсутності фізичних дефектів, які можуть завадити використанню.
3. Перевірте при кімнатній температурі потенціометричним методом, чи відповідає рівень pH значенню  $7,0 \pm 0,2$ .
4. Помістіть в інкубатор незасіяні репрезентативні пробірки або флакони при температурі  $20 - 25^\circ\text{C}$  і  $30 - 35^\circ\text{C}$  та перевірте через 7 і 14 діб на присутність мікроорганізмів.

## ІНФОРМАЦІЯ ПРО ПРОДУКТ

### IV ПРИЗНАЧЕННЯ

Продукт Lowenstein-Jensen Medium (середовище Левенштейна – Єнсена) призначений для культивування мікроорганізмів виду *Mycobacterium tuberculosis* та інших видів мікобактерій.

### V КОРОТКИЙ ОГЛЯД І ОПИС

Левенштейн (Lowenstein) розробив рецептуру середовища для культивування мікобактерій, у якій було поєднано конго червоний і малахітовий зелений для часткової інгібіції інших бактерій.<sup>1,2</sup> Ці барвники використовували для подібних цілей інші дослідники, зокрема Зонненшайн (Sonnenschein)<sup>3</sup> і Хон (Hohn).<sup>4</sup> У США широко використовували середовища Корпера (Corper)<sup>5</sup> і Петрова (Petroff)<sup>6</sup> з генціановим фіолетовим, а також середовище Петраньяні (Petragnani), що містить малахітовий зелений. Поточна рецептура, розроблена Єнсеном,<sup>7</sup> дещо відрізняється вмістом цитрату та фосфату, не містить конго червоного й має більшу концентрацію малахітового зеленого.

Під маркою **BVL** доступні готові середовища Левенштейна – Єнсена такого типу: загального призначення скошене середовище в пробірках для культивування видів *Mycobacterium*; середовище у флаконах для забезпечення більшої площі поверхні; середовище, розлите в пробірки високими стовпчиками, для проведення напівкількісного тесту на основі каталазної реакції. Описану нижче процедуру розробив Вейн (Wayne).<sup>8</sup> Її застосовують для класифікації мікобактерій.

Крім того, пропонується середовище з додаванням 5 % хлориду натрію, оскільки стійкість до 5-процентного розчину хлориду натрію характерна для певних штамів мікобактерій (наприклад, *M. fortuitum* і підвиду *M. chelonae abscessus*).<sup>9</sup> Більшість швидкоростучих мікобактерій, вид *M. triviale* з повільним ростом і деякі штами *M. flavescens* також ростуть на середовищах із вмістом NaCl. Нездатність бактерій *M. chelonae* підвиду *chelonae* рости на такому середовищі дає змогу відрізнити їх від інших представників комплексу *M. fortuitum* (наприклад, підвиду *M. chelonae abscessus*).<sup>9,10</sup>

### VI ПРИНЦИПИ МЕТОДУ

Основа середовища Левенштейна – Єнсена має відносно простий склад, який потребує доповнення для підтримки росту мікобактерій. Перед початком процесу згущення до середовища додають гліцерин і яєчну масу. Ці речовини містять жирні кислоти та білки, необхідні для метаболізму мікобактерій. Коагуляція яєчного альбуміну під час стерилізації сприяє утворенню щільного середовища для інокуляції.

### VII РЕАГЕНТИ

#### Lowenstein-Jensen Medium (середовище Левенштейна – Єнсена)

Приблизний склад\* на 600 мл очищеної води

|                        |        |                            |           |
|------------------------|--------|----------------------------|-----------|
| Фосфат монокалію ..... | 2.5 г  | Картопляний крохмаль ..... | 30,0 г    |
| Сульфат магнію .....   | 0.24 г | Малахітовий зелений .....  | 0,4 г     |
| Цитрат натрію .....    | 0.6 г  | Гліцерин .....             | 12,0 мл   |
| L-аспарагін .....      | 3.6 г  | Цільне яйце .....          | 1000,0 мл |

\*За потреби коригується та/або доповнюється для належної ефективності.

Середовище Левенштейна – Єнсена з 5-процентним розчином хлориду натрію (Lowenstein-Jensen Medium with 5% Sodium Chloride) містить указані вище інгредієнти, а також 80 г хлориду натрію на кожні 600 мл.

#### Попередження та запобіжні заходи. Для діагностики *in vitro*.

Пробірки й флакони з тугими кришками слід відкривати обережно, щоб не розбити скло й не поранитись уламками.

Клінічні зразки можуть містити патогенні мікроорганізми, зокрема віруси гепатиту та імунodefіциту людини. Під час маніпуляцій із предметами, контамінованими кров'ю та іншими біологічними рідинками, необхідно дотримуватися нормативів закладу та стандартних запобіжних заходів.<sup>11-14</sup> Після використання перед викиданням простерилізуйте в автоклаві приготовані пробірки, контейнери для зразків та інші забруднені матеріали.

Під час неаерозольної обробки клінічних зразків (як-от під час приготування мазків кислотостійких штамів) необхідно використовувати ізолююче обладнання й засоби біологічного захисту, а також застосовувати заходи біологічної безпеки 2 рівня. Усі дії, пов'язані з утворенням аерозолів, необхідно здійснювати в ламінарному боксі біологічного захисту класу I або II. Під час лабораторного розмноження та обробки культур *M. tuberculosis* і *M. bovis* необхідно використовувати ізолююче обладнання й засоби біологічного захисту, а також дотримуватися заходів біологічної безпеки 3 рівня. Під час дослідження тварин також необхідно дотримуватися спеціальних методик.<sup>13</sup>

**Інструкції зі зберігання.** Після отримання зберігайте пробірки та флакони в темряві при температурі від 2 до 8 °C. Запобігайте замороженню та перегріванню. Відкривати слід безпосередньо перед використанням. Мінімізуйте вплив світла. Середовища, що зберігаються згідно з вказівками на етикетці, можна використовувати для посіву протягом терміну придатності та інкубувати з дотриманням указанного часу інкубації. Перед посівом температура середовища має зрівнятися з кімнатною.

**Псування продукту.** Не використовуйте пробірки або флакони з видимими ознаками мікробного забруднення, зміни кольору, висихання та іншими ознаками погіршення якості.

### VIII ЗАБІР І ОБРОБКА ЗРАЗКІВ

Придатні для культивування зразки можна обробляти, використовуючи різні методики. Докладну інформацію див. у відповідних документах.<sup>15,16</sup> Зразки слід збирати до введення протимікробних засобів. Необхідно забезпечити своєчасну доставку в лабораторію.

### IX ПРОЦЕДУРА

**Матеріал, що входить у комплект.** Середовище Левенштейна – Єнсена (Lowenstein-Jensen Medium) або середовище Левенштейна – Єнсена з 5 % хлориду натрію (Lowenstein-Jensen Medium with 5% Sodium Chloride)

**Необхідні матеріали, що не входять у комплект.** Допоміжні поживні середовища, реагенти, культури мікроорганізмів для контролю якості та лабораторне обладнання, необхідне для цієї процедури.

**Процедура тестування** Дотримуйтесь правил асептики.

Використовуються процедури тестування, рекомендовані Центрами з контролю і профілактики захворювань у США (CDC) для первісного виділення зі зразків, що містять мікобактерії.<sup>10</sup> Рекомендовано використовувати розчин N-ацетил L-цистеїну та гідроксиду натрію (NALC-NaOH) як м'яку й ефективну розчинну та дезінфекційну речовину. Ці реагенти входять до набору для ферментації та деконтамінації мікобактеріальних зразків **BBL MycoPrep** Mycobacterial Specimen Digestion/Decontamination Kit. Докладніші інструкції з деконтамінації та культивування наведено у відповідних довідкових матеріалах.<sup>10,16-18</sup>

Після інокуляції зберігайте тестові контейнери закритими від світла та покладіть їх у відповідну систему, яка підтримує аеробну атмосферу, збагачену діоксидом вуглецю. Після посіву інкубуйте скошені середовища або флакони із середовищем при температурі  $35 \pm 2^\circ\text{C}$ .

Скошені середовища або флакони із середовищем слід інкубувати в горизонтальному положенні, доки не абсорбується інокулянт. Упродовж перших 3 тижнів пробірки й флакони не слід щільно закривати гвинтовими кришками: щоб ініціювати ріст культури, потрібна циркуляція діоксиду вуглецю. Згодом щільно закрийте кришки, щоб запобігти дегідратації; раз на тиждень на короткий час послабляйте кришку. Якщо бракує місця, установлюйте пробірки вертикально.

**ПРИМІТКА.** Культури з ділянок ураженої шкіри, що підозрюються на приналежність до *M. marinum* або *M. ulcerans*, для первинного виділення слід інкубувати при температурі  $25 - 33^\circ\text{C}$ ; оптимальний ріст культур, які підозрюються на вміст *M. avium* або *M. xenopi*, досягається при температурі  $40 - 42^\circ\text{C}$ .<sup>10</sup> Дублікат культури слід інкубувати при температурі  $35 - 37^\circ\text{C}$ .

Для напівкількісного тесту на основі каталазної реакції з використанням агарових високих стовпчиків середовища Левенштейна – Єнсена рекомендовано описану нижче процедуру.<sup>10</sup>

1. Висійте на поверхню середовища культуру кожного досліджуваного штаму: 0,1 мл 7-денної вирощеної в бульйоні культури або повну петлю культури, що продемонструвала активний ріст на скошеному середовищі. Також висійте в пробірку культуру з високим виробленням каталази (як-от *M. kansasii*) і штам із низьким вмістом ферменту (як-от *M. intracellulare*). Вони служтимуть як контрольні зразки.
2. Інкубуйте з нещільно закритою кришкою при температурі  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  протягом 2 тижнів.
3. Приготуйте суміш полісорбату 80 і пероксиду, змішавши в рівних частинах такі компоненти:
  - a. автоклавований 10-процентний розчин полісорбату 80 у дистильованій воді або 1 мл стерильного полісорбату 80, розведений у 9 мл дистильованої води;
  - b. перексид водню (30 %).
4. Додайте по 1 мл суміші полісорбату 80 і пероксиду водню до кожної культури. Через 5 хвилин виміряйте в мм висоту стовпчиків бульбашок.

Для тестування чутливості до хлориду натрію рекомендовано описану нижче процедуру.<sup>10,17</sup>

1. Приготуйте суспензію субкультури, яка продемонструвала активний ріст, у бульйоні Міддлбрука 7H9 (Middlebrook 7H9 Broth). Мутність субкультури має дорівнювати стандарту Мак-Фарланда №1.
2. Висійте 0,1 мл стандартизованої культури на скошене середовище Левенштейна – Єнсена з 5 % хлориду натрію (Lowenstein-Jensen Medium with 5% Sodium Chloride). Для контролю росту аналогічним чином засійте пробірку зі скошеним середовищем без NaCl.
3. Інкубуйте з нещільно закритими кришками в атмосфері, збагаченій  $\text{CO}_2$ : спочатку в горизонтальному штативі протягом 1 тижня при температурі  $28 - 30^\circ\text{C}$  (для швидкоростучих бактерій) або при  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  (для мікроорганізмів, що ростуть повільно).
4. Щотижня перевіряйте на ознаки росту. За необхідності продовжуйте інкубацію ще протягом трьох тижнів.

**Користувачський контроль якості:** див. розділ «Процедури контролю якості».

Дотримуйтеся вимог щодо контролю якості відповідно до застосованих місцевих і державних нормативів, вимог до акредитації та стандартних процедур контролю якості вашої лабораторії. Для дотримання належних практик контролю якості користувачеві рекомендовано ознайомитися з відповідними нормативами Інституту клінічних і лабораторних стандартів (CLSI, раніше – NCCLS) і нормативами Покращення роботи клінічних лабораторій (CLIA).

## X РЕЗУЛЬТАТИ

Культури слід оглядати через 5 – 7 діб після посіву та надалі раз на тиждень упродовж 8 тижнів.

Запишіть результати спостереження:

1. Кількість днів, необхідна для утворення колоній, видимих неозброєним оком. При швидкому рості колонії дозрівають упродовж 7 днів, при повільному зростанні потрібно більше 7 днів для утворення зрілих колоній.
2. Утворення пігменту.  
Білий, кремовий або темно-жовтий – нехромогенний (НХ).  
Лимонний, жовтий, оранжевий, червоний – хромогенний (Х).

У зафарбованих зразках можуть бути помітні кислотостійкі бацили, які до виконання остаточних тестів слід вказувати лише як «кислотостійкі бацили».

Під час обстеження з препаративною лупою флакони можна перевернути. Оцініть результати при 10 – 60-кратному збільшенні з прохідним світлом. Для швидкого огляду на наявність колоній використовуйте 10 – 20-кратне збільшення. Підвищивши збільшення (до 30 – 60-кратного), можна дослідити морфологію колоній, як-от виявити колонії у вигляді змієподібних джгутів.

За допомогою напівкількісного тесту на основі каталазної реакції більшість мікобактерій можна розділити на дві вказані нижче групи.<sup>8,10,16</sup>

1. Висота стовпчика бульбашок перевищує 45 мм.  
*M. chelonae*  
*M. fortuitum*  
*M. gordonae*  
*M. kansasii* (клінічно значущі)  
*M. scrofulaceum*
2. Висота стовпчика бульбашок не сягає 45 мм.  
*M. avium*  
*M. bovis*  
*M. gastri*  
*M. haemophilum*  
*M. intracellulare*

*M. kansasii* (клінічно незначущі)  
*M. malmoense*  
*M. marinum*  
*M. tuberculosis*  
*M. xenopi*

За наявності або відсутності росту в пробірці із середовищем, що містить 5 % NaCl, можна диференціювати ізоляти мікобактерій. Результат тесту на стійкість до солі вважається позитивним, якщо на контрольному середовищі спостерігаються численні колонії, а на середовищі з 5 % NaCl росте більше 50 колоній.<sup>10,17</sup> Якщо через повні 4 тижні інкубації на контрольному середовищі наявні колонії, а на тестовому середовищі їх не спостерігається, результат тесту негативний.<sup>10,16,17</sup>

#### XI ОБМЕЖЕННЯ МЕТОДУ

Для ідентифікації необхідно використовувати чисті культури мікроорганізмів. Для остаточної ідентифікації слід провести додаткові морфологічні, біохімічні та/або серологічні тести. Докладніші відомості та рекомендовані методики наведено у відповідних довідкових матеріалах.<sup>15,16,19</sup>

#### XII ЕФЕКТИВНІСТЬ

##### Lowenstein-Jensen Medium (середовище Левенштейна – Єнсена)

У дослідженні Палаці (Palaci) та співавторів 85 зразків із дихальних шляхів висіяли на скошені середовища Левенштейна – Єнсена та в пробірки **BBL MGIT** за стандартною методикою. Двадцять п'ять (25) зразків виявилися позитивними на *M. tuberculosis*. Чутливість культур при культивуванні на середовищі Левенштейна – Єнсена і в пробірках **MGIT** становила 96,1% (25 із 26 позитивних культур). Хоча визначення результатів у пробірках **MGIT** відбулося значно швидше, суттєвої різниці в чутливості двох методів виявлення *M. tuberculosis* не спостерігалось.<sup>20</sup>

##### Lowenstein-Jensen Medium Deeps (середовище Левенштейна – Єнсена, розлите високими стовпчиками)

Перед продажем усі партії середовища Левенштейна – Єнсена, розлитого високими стовпчиками, проходять перевірку на характеристики продукту. Для тестування зразки засівають штамами *M. fortuitum* ATCC 6841, *M. intracellulare* ATCC 13950, *M. kansasii* ATCC 12478, *M. scrofulaceum* ATCC 19981 і *M. tuberculosis* ATCC 25177 (0,2 мл суспензії в бульйоні Міддлбрука 7H9). Пробірки інкубують із нещільно закритими кришками при температурі 35–37 °C протягом 3 тижнів. Готують суміш полісорбату 80 і перексиду водню; до кожної культури додають 1 мл цієї суміші. Через 5 хвилин вимірюють в мм висоту стовпчика бульбашок. Позитивним результатом тесту на каталазну реакцію вважається утворення стовпчика бульбашок висотою понад 45 мм. Негативним результатом є утворення стовпчика бульбашок висотою менше 45 мм. Позитивна каталазна реакція спостерігається у видів *M. fortuitum*, *M. kansasii* та *M. scrofulaceum*. Негативна каталазна реакція спостерігається у видів *M. intracellulare* та *M. tuberculosis*.

##### Lowenstein-Jensen Medium with 5% Sodium Chloride (середовище Левенштейна – Єнсена з 5 % хлориду натрію)

Перед продажем усі партії середовища Левенштейна – Єнсена з 5 % хлориду натрію проходять перевірку на характеристики продукту. Зразки тестують із суспензіями клітин *M. fortuitum* ATCC 6841 і *M. kansasii* ATCC 12478, розведеними в бульйоні **BBL** Middlebrook 7H9 Broth до концентрації  $10^3$ – $10^4$  КУО. Пробірки інкубують із нещільно закритими кришками при температурі 35–37 °C протягом 7–14 діб в атмосфері, збагаченій CO<sub>2</sub>. Для бактерій *M. fortuitum* спостерігається помірний або активний ріст культури. Ріст *M. kansasii* інгібується.

#### XIII НАЯВНІСТЬ

##### № за каталогом Опис

|        |                                                                                                         |
|--------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 221115 | <b>BBL</b> Lowenstein-Jensen Medium <b>Mycoflask</b> , по 10 флаконів в упаковці                        |
| 221116 | <b>BBL</b> Lowenstein-Jensen Medium <b>Mycoflask</b> , по 100 флаконів у контейнері                     |
| 220908 | <b>BBL</b> Lowenstein-Jensen Medium Slants, по 10 пробірок розміру А в упаковці                         |
| 220909 | <b>BBL</b> Lowenstein-Jensen Medium Slants, по 100 пробірок розміру А в контейнері                      |
| 221387 | <b>BBL</b> Lowenstein-Jensen Medium Slants, по 10 пробірок розміру С в упаковці                         |
| 221388 | <b>BBL</b> Lowenstein-Jensen Medium Slants, по 100 пробірок розміру С в контейнері                      |
| 221257 | <b>BBL</b> Lowenstein-Jensen Medium Deeps, по 10 пробірок розміру А в упаковці                          |
| 295701 | <b>BBL</b> Lowenstein-Jensen Medium, флакон об'ємом ~29,6 мл, по 100 флаконів у контейнері              |
| 221896 | <b>BBL</b> Lowenstein-Jensen Medium with 5% Sodium Chloride Slants, по 10 пробірок розміру С в упаковці |

#### XIV ДОВІДКОВІ МАТЕРІАЛИ

1. Lowenstein, E. 1931. Die Zachtung der Tuberkelba zillen aus dem stramenden Blute. Zentralbl. Bakteriол. 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. Bakteriол. 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. Bakteriол. 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. Tenover and R.H. Tenover (ed.). 2003. *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
16. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
17. Isenberg, H. (ed.). 2004. *Clinical microbiology procedures handbook*, vol. 1, 2 and 3, 2nd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
18. Carnoch, P.L., R.K. Enns, M.A. Soubolle, and R.J. Wallace, Jr. 1994. Cumitech 16A, Laboratory diagnosis of the mycobacterioses. Coordinating ed., A.S. Weissfeld. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
19. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. *Bergey's Manual™ of determinative bacteriology*, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.
20. Palaci, M., S.Y.M., Ueki, D.N. Sato, M.A. Da Silva Tellis, M. Curcio, and E.A.M. Silva. 1996. Evaluation of Mycobacteria Growth Indicator Tube of recovery and drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from respiratory specimens. *J. Clin. Microbiol.* 34:762-764.



Becton, Dickinson and Company  
7 Loveton Circle  
Sparks, MD 21152 USA  
800-638-8663  
www.bd.com/ds



Benex Limited  
Rineanna House  
Shannon Free Zone  
Shannon, County Clare, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.  
BD, BD Logo, BBL, MGIT, Mycoflask and MycoPrep are trademarks of Becton, Dickinson and Company. ©2011 BD