



BBL Lowenstein-Jensen Medium
BBL Lowenstein-Jensen Medium with 5% Sodium Chloride
L007464 • 11 ред. • Қазан 2015



САПАНЫ БАҚЫЛАУ ПРОЦЕДУРАЛАРЫ (Қосымша)

I КІРІСПЕ

Lowenstein-Jensen Medium (Левенштейн-Йенсен ортасы) микобактерияларды оқшаулау және өсіру үшін пайдаланылады. Терең түтікшелі орта микро ағзаны жіктеуге көмек ретінде жартылай сандық каталаза сынағы үшін пайдаланылады.

II ӨНІМДІЛІК СЫНАҒЫ ПРОЦЕДУРАСЫ

A. Инокулят дайындау процедурасы

1. Стерильді егу таяқшаларын пайдалану арқылы сәйкес микобактериялық штаммдардың бар культураларымен Левенштейн-Йенсен ортасының қиғаш агарларын егіңіз.
2. Белсенді өсім (әдетте 2 – 3 апта ішінде) алынбағанша, 35 ± 2 °C температурасымен қамтамасыз етілген аэробикалық атмосферасында қақпақтары босатылған түтіктерді инкубациялаңыз.
3. Жасушалар жинағымен культура ортасының қосылмайтынын ескеріп, орта бетінен жасушаларды ақырындап алу арқылы стерильді ұшталған аппликатор таяқшасы көмегімен өсімді жинап алыңыз.
 - a. *Mycobacterium tuberculosis* ATCC 25177 арналған:
 - (1) Өсімді стерильді шыны гранулаларын қамтитын стерильді бұрандалы қақпағы бар шыны түтіктегі глицеринмен бірге 5,0 мл Миддлбрук 7H9 қорек ортасына тасымалдаңыз.
 - (2) Суспензиядағы үлкен кесектер жоқ болғанша, жақсылап (бірнеше минут бойы) араластырыңыз.
 - (3) Осы суспензияны Макфарланд #1 нефелометрінің стандартымен салыстырыңыз. Стандартқа қарағанда суспензия анағұрлым бұлыңғыр болуы керек.
 - (4) Үлкен бөлшектердің астына түсуге мүмкіндік беру үшін түтікті түтік сөресіне орналастырыңыз және оны 2 – 3 сағ бөлме температурасында ұстаңыз.
 - (5) Супернататты стерильді ыдысқа құйыңыз.
 - (6) Глицерині бар стерильді Миддлбрук 7H9 қорек ортасын баяу қосу арқылы Макфарланд #1 стандарты бойынша суспензия бұлыңғырлығын реттеңіз. Жақсылап шайқаңыз.
 - (7) Қолдану алдында 10^5 КТБ/мл сұйылтыңыз. Жақсылап араластырыңыз және 0,01 мл калибрленген ілмегін пайдаланып сынақ ортасын штрихтік түрде егіңіз.
 - b. Басқа барлық микобактериялық штаммдар үшін:
 - (1) Өсімді төмендегідей дайындалған 8 – 12 стерильді шыны гранулалары (2 мм диаметр) және микобактерия сұйылтқышының 5 мл тұратын стерильді 50 мл бұрандалы қақпағы бар центрифуга түтігіне орналастырыңыз:
 - Келесі ингредиенттерді 1 л дүңгірде араластырыңыз және 6,7 – 7,0 аралығындағы 1N натрий гидроксидін пайдаланып pH реттеңіз
 - Булимия альбумині (май қышқылы жоқ) 1,0 г
 - Полисорбит 80 0,1 мл
 - Тазартылған су 500 мл
 - Микротесіктері бар мембрана көмегімен сүзу арқылы зарарсыздардырыңыз (0,2 мкм сүзгі)
 - Асептикалық әдіс арқылы 5,5 мл мөлшерін стерильді бұрандалы қақпағы бар түтіктерге тамызыңыз.
 - (2) Аппликатор таяқшасын пайдаланып бұрандалы қақпағы бар центрифуганың бүйірлік жағындағы микобактериялық өсімінің эмульсиясын жасаңыз. Өсімді еріткішпен араластырыңыз.
 - (3) Өсім үлкен кесектері жоқ суспензияға айналғанша, түтікті қақпақпен жауып, шамамен 10 мин шайқаңыз.
 - (4) Стерильді микобактерия еріткішінің 15 мл қосыңыз және әбден араластырыңыз.
 - (5) Осы суспензияны Макфарланд #1 нефелометрінің стандартымен салыстырыңыз. Стандартқа қарағанда суспензия анағұрлым бұлыңғыр болуы керек.
 - (6) Үлкен бөлшектердің астына түсуге мүмкіндік беру үшін түтікті түтік сөресіне орналастырыңыз және оны 2 – 3 сағ бөлме температурасында ұстаңыз.
 - (7) Супернататты сорғызыңыз және оны стерильді ыдысқа құйыңыз. Суспензия Макфарланд #1 стандартынан анағұрлым бұлыңғыр және үлкен бөлшектерден тұрмауы тиіс. Үлкен түйіршіктер әлі де болса, араластырыңыз және қосымша 1 сағ ұстаңыз. Супернататты стерильді ыдысқа құйыңыз.
 - (8) Стерильді микобактерия еріткішін баяу қосу арқылы Макфарланд #1 стандарты бойынша суспензия бұлыңғырлығын реттеңіз. Жақсылап шайқаңыз.
 - (9) Суспензия аликвоталарын ағза идентификаторы және әзірлену мерзімі көрсетілген тоңазыту шишаларына бөліп құйыңыз.
 - (10) Шишаларды -60 °C температурасындағы тоңазытқышқа қою арқылы суспензияларды мұздатыңыз. Шишаларды 6 айға дейін сақтау мүмкін.
 - (11) Қолдану мақсатында тоңазытылған шишаны тоңазытқыштан шығарыңыз және алынғанды 30 – 35 °C ыстық су буында тезірек ерітіңіз. Қолдану алдында 10^5 КТБ/мл сұйылтыңыз. Жақсылап араластырыңыз және 0,01 мл калибрленген ілмегін пайдаланып сынақ ортасын штрихтік түрде егіңіз.

В. Сынақ құралы процедуралары –

Левенштейн-Йенсен ортасының тереңдіктері

1. Жоғарыда сипатталғандай дайындалған культуралар арқылы стерилді бір рет пайдаланылатын 0,01 мл егу ілмегімен қосылыс беттеріне егіңіз.
2. 35 ± 2 °C температурасымен қамтамасыз етілген аэробикалық атмосферасында қақпақтары босатылған түтіктерді инкубациялаңыз.
3. 14 күн екеннен кейін әрбір культура үшін келесідей дайындалған полисорбат 80 тотығы қоспасының 1,0 мл қосыңыз:
 - a. 30% сутек тотығы. Тоңазытқышта сақтаңыз.
 - b. Келесідей дайындалған 10% полисорбат 80:
 - (1) 10 мл полисорбат 80 қоспасын 90 мл тазартылған сумен араластырыңыз.
 - (2) 121 °C температурасында 10 мин автоклавта зарарсыздандырыңыз.
 - (3) Тоңазытқышта сақтаңыз.
 - c. Сынақты орындамас бұрын екі ерітіндінің бірдей бөлігін дереу араластырыңыз.
4. Культураларды бөлме температурасында 5 мин тік күйде сақтаңыз.
5. Орта бетінен жоғары көпіршіктер бағанының биіктігін (мм) өлшеңіз.
6. Күтілетін нәтижелер

Биіктігі 45 мм үлкен көпіршіктер бағаны.

**Mycobacterium kansasii*, Топ I

ATCC 12478

Mycobacterium scrofulaceum, Топ II

ATCC 19981

Mycobacterium fortuitum, Топ IV

ATCC 6841

Биіктігі 45 мм кіші көпіршіктер бағаны.

**Mycobacterium tuberculosis* H37Ra

ATCC 25177

Mycobacterium intracellulare, Топ III

ATCC 13950

*Пайдаланушы сапасын бақылау үшін ұсынылған ағза бояғышы.

Левенштейн-Йенсен ортасының еңістері және бөтелкелері

1. Көрсетілетін сынамаларды төменде тізімделген культуралармен егіңіз.
 - a. Стерилді бір рет пайдаланылатын 0,01 мл калибрленген ілмектер арқылы агарларды немесе жоғары сипатталғандай дайындалған микробактериялық культуралар арқылы түтікшелерді егіңіз.
 - b. 35 ± 2 °C температурасымен қамтамасыз етілген аэробикалық атмосферасында қақпақтары босатылған контейнерлерді инкубациялаңыз.
2. 7, 14 және 21 күннен кейін түтіктердің немесе түтікшелердің өсімін, таңдаулылығын және пигментациясын тексеріңіз.
3. Күтілетін нәтижелер
 - a. Левенштейн-Йенсен ортасына арналған

CLSI ағзалары	ATCC	Белгілену
* <i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Ra	25177	Өсім
* <i>Mycobacterium kansasii</i> , Топ I	12478	Өсім
* <i>Mycobacterium scrofulaceum</i> , Топ II	19981	Өсім
* <i>Mycobacterium intracellulare</i> , Топ III	13950	Өсім
* <i>Mycobacterium fortuitum</i> , Топ IV	6841	Өсім

- b. Lowenstein-Jensen Medium with 5% Sodium Chloride (5% натрий хлориді бар Левенштейн-Йенсен ортасына) арналған

Ағзалар	ATCC	Белгілену
* <i>Mycobacterium fortuitum</i>	6841	Өсім
* <i>Mycobacterium kansasii</i>	12478	Өсім жоқ

*Пайдаланушы сапасын бақылау үшін ұсынылған ағза бояғышы.

III ҚОСЫМША САПАНЫ БАҚЫЛАУ

1. "Өнімнің бүлінуі" бөлімінде сипатталғандай түтіктерді немесе түтікшелерді тексеріңіз.
2. Ешбір физикалық зақымдар қолданысқа кедергі жасамайтынын бағалау үшін түтіктерді немесе түтікшелерді көзбен тексеріңіз.
3. $7,0 \pm 0,2$ сипаттамасына сәйкес бөлме температурасында потенциометрикалық түрде pH анықтаңыз.
4. Инокуляцияланбаған көрсетілетін түтіктерді түтікшелерді 20 – 25 °C және 30 – 35 °C ауқымында егіп, микробтық ластануға 7 – 14 күн тексеріңіз.

ӨНІМ ТУРАЛЫ АҚПАРАТ

IV ҚОЛДАНУ МАҚСАТЫ

Левенштейн-Йенсен ортасы *Mycobacterium tuberculosis* және басқа микробактериялық үлгілерді егуге пайдаланылады.

V ҚЫСҚА СИПАТТАМАСЫ МЕН ТҮСІНІКТЕМЕСІ

Левенштейн бастапқыда басқа бактерияның жартылай кідіруі үшін конго қызыл және малахит жасыл түстерінің қосындысындағы микобактерияны өсіру мақсатында ортаны жасады.^{1,2} Бұл бояғыштар бір мақсатпен басқа зерттеушілер, әсіресе Зонненшайн³ мен Хон арқылы пайдаланылды.⁴ Америка Құрама Штаттарында Корпер⁵ мен Петровтың⁶ генциан күлгін түсті ортасы малахит жасыл түсті Петраньянидің ортасымен қатар белгілі болды. Дженсен⁷ тарапынан әзірленген бұл формула құрамында аздаған өзге цитрат пен фосфаты бар, конго қызыл түсі жоқ, керісінше арттырылған малахит жасыл түсті концентрациясынан тұрады.

BBL дайындаған Левенштейн-Йенсен ортасының өнімдеріне *Mycobacterium* үлгілерін егуге пайдаланылатын түтікшелі қосылыстар, жоғары аймақ қажет болған кезде пайдаланылатын түтікшелер және жартылай сандық каталаза сынағының өнімділігінің түтікшелі тереңдіктері кіреді. Бұл соңғы процедураны Уэйн әзірледі⁸ және микробактерияны жіктеуге пайдалы болып табылады.

Оған қоса, 5% натрий хлориді микробактерияның белгілі бір бояуының сипатына рұқсат беретін 5% натрий хлоридінің қоспасымен орта қолжетімді (мысалы, *M. fortuitum* және *M. chelonae* subsp. *abscessus*).⁹ Көптеген жылдам өндірушілер, баяу өсетін *M. triviale* және *M. flavescens* кейбір бояулары NaCl болатын ортада өседі. *M. chelonae* subsp. *chelonae* қоспасының өсу мүмкінсіздігі *M. fortuitum* жинағының басқа мүшелерін ажыратуға көмектеседі (мысалы, *M. chelonae* subsp. *abscessus*).^{9,10}

VI ПРОЦЕДУРАНЫҢ ПРИНЦИПТЕРІ

Левенштейн-Йенсен негізгі ортасы микобактерияның өсіміне мүмкіндік беру мақсатында толықтыруды қажет ететін қатысты қарапайым формуласынан тұрады. Қоюлану процесіне дейін глицерин мен жұмыртқа қоспасы қосылады. Осы заттардың құрамында микобактерия метаболизміне қажетті барлық май қышқылдары мен ақуыздар бар. Стерилизация кезінде жұмыртқа альбумінінің коагуляциясы инокуляция мақсаттары үшін тығыз ортаны қалыптастырады.

VII РЕАГЕНТТЕР

Левенштейн-Йенсен ортасы

600 мл тазартылған судың шамаланған формуласы*

Монокалий фосфаты	2,5 г	Картоп ұны	30,0 г
Магний сульфаты	0,24 г	Малахит жасыл	0,4 г
Натрий цитраты	0,6 г	Глицерол	12,0 мл
L-аспарагин	3,6 г	Бүтін жұмыртқа	1000,0 мл

*Өнімділік критерийлеріне сәйкес келу үшін қажетінше реттелген және/немесе толықтырылған.

Lowenstein-Jensen Medium with 5% Sodium Chloride (5% натрий хлоридінен тұратын Левенштейн-Йенсен ортасы) әрбір 600 мл, 80 г натрий хлориді үшін жоғарыдағы ингредиенттерден тұрады.

Ескертулер мен сақтық шаралары: *In vitro* жағдайында диагностикалық қолдануға арналған.

Шыны сынуынан жарақатты болдырмау үшін тығыз қапқаттары бар түтіктерді немесе түтікшелерді абайлап ашу керек. Емханалық препараттардың ішінде гепатит вирусы және адамның иммунитет тапшылығының вирусы сияқты патогендік микроағзалар болуы мүмкін. Қан немесе дене сұйықтары түсіп індеттелінген заттар мен бұйымдарды "Стандарттық сақтандыру үшін нұсқаулар"¹¹⁻¹⁴ мен клиникалық нұсқауларға сәйкес өңдеу керек. Қолданыстан кейін шығармас бұрын дайындалған түтіктер, сынама ыдыстар және залалданған материалдарды автоклав құралы көмегімен залалсыздандырыңыз.

Қышқылға төзімді жағындыларды дайындау сияқты клиникалық үлгілерді аэрозольсіз өңдеу үшін 2-биоқауіпсіздік деңгейіндегі әдістемелер, процедуралар, сақтау жабдығы мен құрылғылары қажет. Барлық аэрозоль шығаратын әрекеттер I немесе II топты биологиялық қауіпсіз камераларында орындалуы қажет. *M. tuberculosis M. tuberculosis* және *M. bovis* микобактерияларының түрін көбейту және өңдеу кезіндегі лаборатория әрекеттері үшін 3-биоқауіпсіздік деңгейіндегі әдістемелер, сақтау жабдығы мен құрылғылар қажет. Жануар зерттеулері де арнайы процедураларды талап етеді.¹⁵

Сақтау нұсқаулықтары: Алынғаннан кейін түтіктерді және түтікшелерді 2 – 8 °C ауқымында қараңғыда сақтаңыз. Тоңазытпаңыз және қыздырмаңыз. Қолдануға дайын болмағанша ашпаңыз. Жарыққа көп шығармау керек. Қолдануға дейін көрсетілгендей орта жарамдылық мерзіміне дейін зарарсыздандырылып, ұсынылатын инкубация уақыты үшін шығарылуы мүмкін. Инокуляциядан бұрын ортаны бөлме температурасына дейін жылуына мүмкіндік беріңіз.

Өнімнің бұзылуы: Егер микробтың өнуі, түс өзгеруі, кебу не нашарлаудың өзге де белгілері байқалса, түтіктерді немесе түтікшелерді пайдаланбаңыз.

VIII ҮЛГІЛЕРДІ ЖИНАУ ЖӘНЕ ҚОЛДАНУ

Түрлі әдістерді пайдалану арқылы өсіруге қолайлы үлгілерді қолдануға болады. Толығырақ ақпарат алу үшін тиісті^{15,16} құжаттарын қараңыз. Микробқа қарсы қоспаларды енгізуден бұрын үлгілерді алу керек. Зертханаға міндетті түрде жеткізу қажет.

IX ПРОЦЕДУРА

Қамтамасыз етілген материал: Левенштейн-Йенсен ортасы немесе Lowenstein-Jensen Medium with 5% Sodium Chloride (5% натрий хлориді бар Левенштейн-Йенсен ортасына) арналған

Қажетті, бірақ жинақпен берілмейтін материалдар: Осы процедураға қажетті культура ортасы, реагенттер, сапаны бақылау ағзалары және зертханалық жабдық.

Сынау процедурасы: Асептикалық жұмыс әдістерін орындаңыз.

Микобактериядан тұратын үлгілердегі бастапқы изоляцияға арналған АҚШ ауруды бақылау және алдын алу (CDC) орталықтары арқылы ұсынылған сынақ процедуралары.¹⁰ N-ацетил-L-цистеин-натрий гидроксидінің (NALC-NaOH) ерітіндісі жұмсақ, бірақ тиімді түрде еритін және зарарсыздандырғыш зат ретінде ұсынылады. Бұл реагенттер **BBL MycoPrep** Mycobacterial Specimen Digestion/Decontamination Kit жинағында қамтамасыз етіледі. Зарарсыздандыру және егу бойынша толық нұсқауларды қажетті материалдардан қараңыз.^{10,16-18}

Егуді орындай отырып, сынақ ыдыстарын жарықтан қорғаңыз және карбон диоксиді бар аэробикалық атмосферасын қамтамасыз ету арқылы тиісті жүйе ішіне орналастырыңыз. Инокуляцияланған қосылымтар мен түтікшелерді $35 \pm 2^\circ\text{C}$ температурасында егіңіз.

Инокулят сіңірілмегенше, қосылысты және түтікшелі ортаны жазық бетте инкубациялау керек. Өсімді бастау үшін карбон диоксидінің айналымына мүмкіндік беру үшін алғашқы 3 апта ішінде бұрандалы қақпағы бар түтіктерді және түтікшелерді қатты жаппау керек. Осыған сәйкес, сорғытуды болдырмау үшін қақпақтарды бекемдеңіз; аптасына бір рет қысқа мерзімге ашып тұрыңыз. Кеңістіктің жоқ болуы кезінде түтіктерді көлденең бағытта орналастырыңыз.

ЕСКЕРТПЕ: Бастапқы изоляция үшін *M. marinum* немесе *M. ulcerans* шамалас тері зақымдарындағы культураларды $25 - 33^\circ\text{C}$ инкубациялау керек; шамалы түрде *M. avium* немесе *M. xenopi* қамтитын культуралар $40 - 42^\circ\text{C}$ температурасында орын алады.¹⁰ Дубликат культураны $35 - 37^\circ\text{C}$ температурасында инкубациялаңыз.

Левенштейн-Йенсен ортасының агарын пайдаланатын жартылай сандық каталаза сынағы үшін ұсынылған процедура келесідей.¹⁰

1. Не 7 күндік бульон культурасының 0,1 мл, не әрбір сынақ бояуының белсенді өсетін қосылысынан өсім ілмегі бар орта бетіне егіңіз. Сондай-ақ, күшті каталаза шығарушы культуралы түтіктерді егіңіз, мысалы, *M. kansasii* және әлсіз ферментті бояу, мысалы, *M. intracellulare*.
2. $35 \pm 2^\circ\text{C}$ ауқымында 2 апта босатылған қақпақпен инкубациялаңыз.
3. Тең бөлігін араластыру арқылы полисорбат 80 тотығы қоспасын дайындаңыз:
 - a. Зарарсыздандырылған судағы полисорбат 80 қоспасының автоклавпен дайындалған 10% ерітіндісі немесе 9 мл зарарсыздандырылған судағы стерилді полисорбат 80 қоспасының 1 мл бұзылысы.
 - b. Сутегі тотығы (30%).
4. 1 мл полисорбат 80 тотығы қоспасын әрбір культураға қосыңыз. 5 мин кейін көпіршіктер бағандарының мм өлшеміндегі биіктігін жазыңыз.

Натрий хлориді шегі сынағының ұсынылған процедурасы келесідей.^{10,17}

1. МакФарланд 1-стандартына тең Миддлбрук 7H9 бульонында белсенді өсетін субкультураның суспензиясын жасаңыз.
2. Lowenstein-Jensen Medium with 5% Sodium Chloride (5% натрий хлориді бар Левенштейн-Йенсен ортасы) қосылысына стандартталған культураның 0,1 мл мөлшерін егіңіз. Ұқсас түрде NaCl қоспасынсыз ортаның қосылысына өсімді бақылау түтігі ретінде егіңіз.
3. CO₂ байытылған атмосферада босатылған қақпақтармен, бастапқыда, 1 апта жылдам өсетіндер үшін $28 - 30^\circ\text{C}$ ауқымында немесе баяу өсетіндер үшін $35 \pm 2^\circ\text{C}$ ауқымында егіңіз.
4. Апта сайын өсімді тексеріңіз. Егер қажет болса, инкубацияның үш аптада аса жалғастырыңыз.

Пайдаланушының сапа бақылауы: "Сапаны бақылау процедуралары" бөлімін қараңыз.

Әрбір орта топтамасы тиісті сапа бақылау ағзаларымен сыналған және осы сынақ қатысты орында өнім сипаттамалары мен CLSI стандарттарына сәйкес. СБ сынағы күшіндегі жергілікті, мемлекеттік және/немесе федералдық заңдарға сәйкес немесе аккредитация талаптарын^a және өзіңіздің стандартты сапа бақылау процедураларына сәйкес өткізілуі керек.

X НӘТИЖЕЛЕР

Егуден кейін культураларды 5 – 7 күн ішінде, осыдан кейін 8 апталық мерзім ішінде бір аптада бақылап тұру керек.

Бақылауларды жазып алыңыз:

1. Көзге көрінер өлшемінде болатын колониялар үшін қажетті күндер саны. Жылдам өсу кезінде колониялар 7 күн ішінде жетіледі; ал баяу өсу кезінде колония формалары 7 күннен артық мерзімді қажет етеді.

2. Пигменттің пайда болуы

Ақ, крем не күңгірт сары = хромогенді емес (ХЕ)

Лимон, сары, қызғылт сары, қызыл = хромогенді (Х)

Қорытынды сынақтар орындалмағанша, грам бойынша боялмайтын жағындылар тек "қышқылға төзімді бациллалар" болып есептелінетін қышқылға төзімді бациллаларды көрсетуі мүмкін.

Микроскоппен ашу сатысында бөтелкелерді ауыстыру арқылы тексеруге болады. Өтпелі жарықпен 10-60х оқыңыз. Колониялардың бар-жоғын 10-20х деңгейінде жылдам сканерлеңіз. Жоғары үлкейту (30-60х) колония морфологиясын зерттеуде көмектеседі, яғни, серпентин сымына ұқсас колониялар.

Жартылай сандық каталаза сынағында көптеген микробактерия екі топқа бөлінеді.^{8,10,16}

1. Биіктігі 45 мм көп көпіршіктер бағаны.

M. chelonae

M. fortuitum

M. goodii

M. kansasii (клиникалық түрде маңызды)

M. scrofulaceum

2. Биіктігі 45 мм кіші көпіршіктер бағаны.
M. avium
M. bovis
M. gastri
M. haemophilum
M. intracellulare
M. kansasii (клиникалық түрде маңызды емес)
M. malmoense
M. marinum
M. tuberculosis
M. xenopi

5% NaCl бар ортаның түтігіндегі өсімнің болуы немесе болмауы микробактериялық изоляттарды ажыратуға көмектеседі. Тұзға төзімділік сынағы сандық колониялар бақылау ортасында пайда болғанда және 50-ден аса колония 5% NaCl бар ортада өскен кезде оң болады.^{10,17} Бақылау ортасындағы колониялар, бірақ жалпы 4 апта инкубациядан кейін сынақ ортасында өсім көрінбейтін, теріс сынақ береді.^{10,16,17}

XI ПРОЦЕДУРА ШЕКТЕУЛЕРІ

Идентификация үшін таза культура негізіндегі ағзалар қолданылуы қажет. Соңғы идентификация үшін морфологиялық, биохимиялық және/немесе серологиялық сынақтар жүзеге асырылуы керек. Толығырақ ақпарат пен ұсынылған процедураларды тиісті құжаттардан қараңыз.^{15,16,19}

XII ТИІМДІЛІК СИПАТТАМАЛАРЫ

Lowenstein-Jensen Medium (Левенштейн-Йенсен ортасы)

Palaci және т.б. зерттеуінде 85 тыныс үлгісі Левенштейн-Йенсен (ЛЙ) қосылыстарына және **BBL MGIT** түтіктеріне стандартты процедуралар арқылы егіледі. Жиырма бес (25) үлгі *M. tuberculosis* үшін оң болып табылды. LJ және **MGIT** культура сезімталдығы 96,1% болды (25/26 оң культура). **MGIT** түтіктерінде анықтау уақыты айтарлықтай қысқа болғанымен, екі әдіс арасында *M. tuberculosis* анықтау сезімталдығында айтарлықтай айырмашылық болмады.²⁰

Lowenstein-Jensen Medium (Левенштейн-Йенсен ортасы) тереңдіктері

Шығу алдында Lowenstein-Jensen Medium (Левенштейн-Йенсен ортасы) тереңдіктері барлық лоттары арнайы өнім сипаттамаларына сәйкес сыналады. Сынамалар 0,2 мл Миддлбрук 7H9 бульоны суспензияларын егу арқылы *M. fortuitum* ATCC 6841, *M. intracellulare* ATCC 13950, *M. kansasii* ATCC 12478, *M. scrofulaceum* ATCC 19981 және *M. tuberculosis* ATCC 25177 қоспаларымен сыналады. Түтіктер 35 – 37 °C ауқымында 3 аптаға дейін босатылған қақпақтармен инкубацияланады. Полисорбат 80 тотығының қоспасы дайындалып, 1 мл мөлшері әрбір культураға қосылады. 5 мин кейін көпіршіктер бағандарының мм өлшеміндегі биіктігі жазылады. Оң каталаза реакциясы - биіктігі 45 мм үлкен көпіршіктер бағаны. Теріс реакция - биіктігі 45 мм кіші көпіршіктер бағаны. Оң каталаза реакциясы *M. fortuitum*, *M. kansasii* және *M. scrofulaceum* қоспаларымен қарастырылады. Теріс каталаза реакциясы *M. intracellulare* және *M. tuberculosis* қоспаларымен қарастырылады.

Lowenstein-Jensen Medium with 5% Sodium Chloride (5% натрий хлориді бар Левенштейн-Йенсен ортасы)

Шығу алдында Lowenstein-Jensen Medium with 5% Sodium Chloride (5% натрий хлориді бар Левенштейн-Йенсен ортасы) барлық лоттары арнайы өнім сипаттамаларына сәйкес сыналады. Сынамалар **BBL Middlebrook 7H9 Broth** бульонында зарарсыздандырылған *M. fortuitum* ATCC 6841 және *M. kansasii* ATCC 12478 жасуша суспензияларымен 10^3 – 10^4 CFU шамасына жету үшін сыналады. Түтіктер 35 – 37 °C ауқымында 7 – 14 күн CO₂ байытылған атмосферада босатылған қақпақтармен инкубацияланады. Орташа-ауыр өсім *M. fortuitum* қоспасымен қарастырылады. *M. kansasii* тоқтатылады.

XIII ҚОЛЖЕТІМДІЛІК

Кат. №	Сипаттама
221116	BD BBL Lowenstein-Jensen Medium Mycoflask , 100 бөтелкелі жинақ
220908	BD BBL Lowenstein-Jensen Medium Slants, A өлшеміндегі 10 түтігі бар пакет
220909	BD BBL Lowenstein-Jensen Medium Slants, A өлшеміндегі 100 түтігі бар жинақ

XIV АНЫҚТАМАЛАР

- 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 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. 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. Rinzucht und Typenbestimmung von Tuberkelbazillentammen. Zentralbl. Bakteriол. 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.

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. 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.

Служба технической поддержки BD Diagnostics: BD компаниясының жергілікті өкіліне немесе www.bd.com/ds хабарласыңыз.



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