

BBL Löwenstein-Jensen Medium with 5% Sodium Chloride

L007464 • Rev. 09 • Februar 2011

MASSNAHMEN ZUR QUALITÄTSKONTROLLE

I EINFÜHRUNG

Löwenstein-Jensen-Medium wird zur Isolierung und Kultivierung von Mykobakterien verwendet. Das als Ausgießröhrchen verfügbare Medium dient beim semiquantitativen Katalasetest als Hilfsmittel zur Klassifizierung von Mykobakterien.

II LEISTUNGSTESTVERFAHREN

A. Verfahren zur Herstellung von Inokula

1. Löwenstein-Jensen-Medium, Schrägagars mithilfe von sterilen Inokulationsstäbchen mit Stammkulturen der entsprechenden mykobakteriellen Stämme inokulieren.
2. Die Röhrchen mit locker aufgesetzten Kappen in einer aeroben Atmosphäre unter Zusatz von Kohlendioxid bei 35 ± 2 °C inkubieren, bis starkes Wachstum zu beobachten ist (üblicherweise innerhalb von 2 bis 3 Wochen).
3. Das Wachstum mit einem sterilen, geschärften Applikatorstäbchen entnehmen. Hierzu die Zellen von der Oberfläche des Mediums vorsichtig entfernen und darauf achten, dass zusammen mit den Zellen nicht versehentlich auch Kulturmedium entnommen wird.
 - a. Für *Mycobacterium tuberculosis* (ATCC 25177):
 - (1) Das Wachstum auf 5,0 mL Middlebrook-7H9-Bouillon mit Glycerol in ein steriles Glasröhrchen mit Schraubverschluss und sterilen Glasperlen transferieren.
 - (2) Gut durchmischen (mehrere Minuten), bis die Suspension frei von großen Klumpen ist.
 - (3) Diese Suspension mit einem McFarland-Nephelometer-Standard Nr. 1 vergleichen. Die Suspension sollte trüber sein als der Standard.
 - (4) Das Röhrchen 2 bis 3 h lang bei Raumtemperatur in ein Gestell geben, damit sich die großen Partikel am Boden absetzen können.
 - (5) Den Überstand in einen sterilen Behälter transferieren.
 - (6) Die Trübheit der Suspension auf den McFarland-Standard Nr. 1 einstellen. Hierzu langsam sterile Middlebrook-7H9-Bouillon mit Glycerol zugeben. Gut schütteln.
 - (7) Vor Gebrauch auf 10^5 KBE/mL verdünnen. Gut durchmischen und das Testmedium mit einer auf 0,01 mL kalibrierten Impföse zur Inokulation ausstreichen.
 - b) Für alle anderen mykobakteriellen Stämme:
 - (1) Das Wachstum in ein steriles 50-mL-Zentrifugenröhrchen mit Schraubverschluss transferieren, das 8 bis 12 sterile Glasperlen (2-mm-Durchmesser) und 5 mL Mykobakterium-Verdünnung enthält, die wie folgt präpariert ist:
 - Folgende Bestandteile in einem 1 L-Glaskolben mischen und den pH-Wert einstellen. Dabei 1 N Natriumhydroxid mit einem pH-Wert von 6,7 bis 7,0 verwenden.

Rinderalbumin (fettsäurefrei).....	1,0 g
Polysorbat 80	0,1 mL
Destilliertes Wasser.....	500 mL
 - Durch Membranfiltrierung (0,2-µ-Filter) sterilisieren
 - Unter aseptischen Bedingungen in Mengen zu 5,5 mL in sterile Röhrchen mit Schraubverschluss geben.
 - (2) Das mykobakterielle Wachstum mit einem Applikatorstäbchen an den Seitenwänden eines Zentrifugenröhrchens mit Schraubverschluss emulgieren. Das Wachstum mit dem Verdünnungsmittel vermischen.
 - (3) Das Röhrchen verschließen und ca. 10 min in einem Vortex-Mischer durchmischen, bis das Wachstum gut suspendiert und frei von großen Klumpen ist.
 - (4) 15 mL sterile Mykobakterium-Verdünnung zugeben und gründlich durchmischen.
 - (5) Diese Suspension mit einem McFarland-Nephelometer-Standard Nr. 1 vergleichen. Die Suspension sollte trüber sein als der Standard.
 - (6) Das Röhrchen 2 bis 3 h lang bei Raumtemperatur in ein Gestell geben, damit sich die großen Partikel am Boden absetzen können.
 - (7) Den Überstand aspirieren und in einen sterilen Behälter transferieren. Die Suspension muss eine stärkere Trübung aufweisen als der McFarland-Standard

Nr. 1 und frei sein von großen Partikeln. Wenn noch immer große Partikel vorhanden sind, mischen und dann eine weitere Stunde stehen lassen. Den Überstand in einen sterilen Behälter transferieren.

- (8) Die Trübheit der Suspension auf den McFarland-Standard Nr. 1 einstellen. Hierzu langsam sterile Mykobakterium-Verdünnung zugeben. Gut schütteln.
- (9) Kleinere Mengen der Suspension in für den Gefrierschrank geeignete Fläschchen geben und mit der Bezeichnung des Organismus und dem Herstellungsdatum beschriften.
- (10) Die Suspension einfrieren. Hierzu die Fläschchen in einem Niedrigtemperatur-Gefrierschrank bei $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufbewahren. Die Fläschchen können bis zu 6 Monate aufbewahrt werden.
- (11) Zum Gebrauch das gefrorene Fläschchen aus dem Gefrierschrank entnehmen und den Inhalt schnell auftauen, indem das Röhrchen in ein Wasserbad mit $30 - 35\text{ }^{\circ}\text{C}$ gegeben wird. Vor Gebrauch auf 10^5 KBE/mL verdünnen. Gut durchmischen und das Testmedium mit einer auf 0,01 mL kalibrierten Impföse zur Inokulation ausstreichen.

B. Verfahren zum Testen von Medien

Löwenstein-Jensen-Medium, Ausgießröhrchen

1. Die Oberfläche des Mediums mit einer sterilen 0,01 mL-Einmal-Inokulationsöse mit den wie oben beschrieben präparierten Kulturen inokulieren.
2. Die Röhrchen mit locker aufgesetzten Kappen in einer aeroben Atmosphäre unter Zusatz von Kohlendioxid bei $35 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ inkubieren.
3. Nach einer Inkubationszeit von 14 Tagen jeder Kultur eine wie folgt präparierte 1,0 mL-Mischung aus Polysorbat 80 und Wasserstoffperoxid zugeben:
 - a) 30 % Wasserstoffperoxid. Im Gefrierschrank aufbewahren.
 - b) 10 % Polysorbat 80, wie folgt präpariert:
 - (1) 10 mL Polysorbat 80 mit 90 mL destilliertem Wasser vermischen.
 - (2) Bei $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 10 Min im Autoklaven sterilisieren.
 - (3) Im Gefrierschrank aufbewahren.
 - c) Die beiden Lösungen unmittelbar vor Durchführung des Tests zu gleichen Teilen mischen.
4. Die Kulturen 5 min bei Raumtemperatur in aufrechter Position stehen lassen.
5. Die Höhe der Blasensäule (mm) über der Oberfläche des Mediums messen.

6. Zu erwartende Ergebnisse

Die Blasensäule ist größer als 45 mm.

**Mycobacterium kansasii*, Gruppe I

ATCC 12478

Mycobacterium scrofulaceum, Gruppe II

ATCC 19981

Mycobacterium fortuitum, Gruppe IV

ATCC 6841

Die Blasensäule ist kleiner als 45 mm.

**Mycobacterium tuberculosis*

H37Ra ATCC 25177

Mycobacterium intracellulare, Gruppe III

ATCC 13950

* Empfohlener Stamm des Mikroorganismus zur Qualitätssicherung durch den Anwender.

Löwenstein-Jensen-Medium, Schrägagar und Fläschchen

1. Repräsentative Proben mit den nachstehend aufgeführten Kulturen inokulieren.
 - a) Den Schrägagar oder die Fläschchen mit sterilen, auf 0,01 mL kalibrierten Einmal-Impfösen mit den wie oben beschrieben präparierten mykobakteriellen Kulturen inokulieren.
 - b) Die Behälter mit locker aufgesetzten Kappen in einer aeroben Atmosphäre unter Zusatz von Kohlendioxid bei $35 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ inkubieren.
2. Die Röhrchen oder Fläschchen nach 7, 14 und 21 Tagen auf Wachstum, Selektivität und Pigmentierung überprüfen.
3. Zu erwartende Ergebnisse
 - a) Für Löwenstein-Jensen-Medium
CLSI-Kontrollorganismen (ATCC-Stämme)
**Mycobacterium tuberculosis*..... Wachstum
H37Ra (25177)
**Mycobacterium kansasii*, Wachstum
Gruppe I (12478)

**Mycobacterium scrofulaceum*,..... Wachstum
Gruppe II (19981)
**Mycobacterium intracellulare*,..... Wachstum
Gruppe III (13950)
**Mycobacterium fortuitum*, Wachstum
Gruppe IV (6841)

b) Für Löwenstein-Jensen-Medium mit 5 % Natriumchlorid

**Mycobacterium fortuitum*..... Wachstum
ATCC 6841
**Mycobacterium kansasii* Kein Wachstum
ATCC 12478

* Empfohlener Stamm des Mikroorganismus zur Qualitätssicherung durch den Anwender.

III ZUSÄTZLICHE QUALITÄTSKONTROLLE

1. Die Röhrchen bzw. Fläschchen untersuchen, wie unter „Haltbarkeit des Produkts“ beschrieben.
2. Repräsentative Röhrchen bzw. Fläschchen visuell überprüfen, um sicherzustellen, dass ihre Nutzung nicht durch bereits vorhandene Beschädigungen beeinträchtigt werden kann.
3. Den pH-Wert mit dem Potentiometer bei Raumtemperatur daraufhin überprüfen, ob ein Bereich von $7,0 \pm 0,2$ eingehalten wird
4. Nicht inokulierte repräsentative Röhrchen bzw. Fläschchen bei 20 – 25 °C und bei 30 – 35 °C inkubieren und nach 7 und 14 Tagen auf Kontamination durch Mikroorganismen untersuchen.

PRODUKTINFORMATIONEN

IV VERWENDUNGSZWECK

Löwenstein-Jensen-Medium wird für die Kultivierung von *Mycobacterium tuberculosis* und anderen mykobakteriellen Spezies verwendet.

V ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Löwenstein formulierte ursprünglich ein Medium zur Kultivierung von Mykobakterien, in das Kongorot und Malachitgrün zur teilweisen Hemmung anderer Bakterien integriert waren.^{1,2} Diese Farbstoffe wurden ebenfalls von anderen Wissenschaftlern eingesetzt, besonders von Sonnenschein³ und Hohn.⁴ In den Vereinigten Staaten waren die Genticianviolett-Medien von Corper⁵ und Petroff⁶ beliebt, zusammen mit dem Medium von Petraghani, welches Malachitgrün enthielt. Die vorliegende, von Jensen⁷ entwickelte Formel, weist einen geringfügig anderen Citrat- und Phosphatgehalt auf, enthält kein Kongorot und eine höhere Konzentration von Malachitgrün.

Zu den gebrauchsfertigen BBL Produkten des Löwenstein-Jensen-Mediums gehören Schrägagar in Röhrchen zur allgemeinen Verwendung bei der Kultivierung von *Mykobakterium*-Spezies, Fläschchen zur Verwendung bei einem größeren Oberflächenbereich und Ausgießröhrchen für die Durchführung des semiquantitativen Katalasetests. Das letztere Verfahren wurde von Wayne⁸ entwickelt und dient der Klassifizierung von Mykobakterien.

Darüber hinaus ist das Medium mit 5 % Natriumchlorid erhältlich, da die Fähigkeit, 5 % Natriumchlorid zu tolerieren, eine charakteristische Eigenschaft bestimmter Mykobakterienstämme (z. B. *M. fortuitum* und *M. chelonae*, Subsp. *abscessus*) ist.⁹ Die meisten schnell wachsenden Mykobakterien, die langsam wachsenden *M. triviale* und einige Stämme des *M. flavescens* wachsen zudem auf Medien, die NaCl enthalten. Die Unfähigkeit von *M. chelonae*, Subsp. *Chelonae*, zu wachsen, hilft bei der Unterscheidung von anderen Mitgliedern des *M. fortuitum*-Komplexes (z.B. *M. chelonae*, Subsp. *abscessus*).^{9,10}

VI VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Die Basis für das Löwenstein-Jensen-Medium ist eine relativ einfache Formulierung, die einige Zusätze erfordert, um das Wachstum von Mykobakterien zu fördern. Glycerol und Eimischung werden vor dem Eindampfen/Eindicken (Inspissation) zugegeben. Diese Substanzen liefern die für den Metabolismus der Mykobakterien erforderlichen Fettsäuren und Proteine. Die Gerinnung des Eialbumins während der Sterilisierung liefert ein festes Medium für den Inokulationsprozess.

VII REAGENZIEN

Löwenstein-Jensen Medium

Ungefähre Zusammensetzung* pro 600 mL destilliertem Wasser

Kaliumdihydrogenphosphat	2,5	g
Magnesiumsulfat	0,24	g
Natriumcitrat	0,6	g
L-Asparagin	3,6	g
Kartoffelmehl	30,0	g
Malachitgrün	0,4	g
Glyzerin	12,0	mL
Eimasse (ganzes Ei)	1000,0	mL

*Nach Bedarf abgestimmt und/oder ergänzt auf die geforderten Testkriterien.

Löwenstein-Jensen-Medium mit 5 % Natriumchlorid enthält die oben aufgeführten Bestandteile sowie 80 g Natriumchlorid auf 600 mL.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

In-vitro-Diagnostikum.

Röhrchen und Fläschchen mit fest sitzenden Verschlusskappen sind vorsichtig zu öffnen, um Verletzungen durch Glasbruch zu vermeiden.

Klinische Proben können pathogene Mikroorganismen, wie z.B. Hepatitis-Viren und HIV, enthalten. Beim Umgang mit allen mit Blut oder anderen Körperflüssigkeiten kontaminierten Artikeln sind die „Allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen“¹¹⁻¹⁴ sowie die einschlägigen Institutionsrichtlinien zu beachten. Präparierte Röhrchen, Probenbehälter und sonstige kontaminierte Materialien nach Verwendung im Autoklaven sterilisieren und erst dann entsorgen.

Die Methoden und Verfahren sowie die Behälter und Einrichtungen der biologischen Sicherheitsstufe 2 sind für Manipulationen klinischer Proben, bei denen keine Aerosole entstehen, erforderlich, wie beispielsweise bei der Vorbereitung von säurefesten Ausstrichen. Alle Aktivitäten, bei denen Aerosole entstehen, müssen an einer biologischen Sicherheitswerkbank der Klasse I oder II durchgeführt werden. Verfahren, Behälter und Einrichtungen der biologischen Sicherheitsstufe 3 sind für Laboraktivitäten zur Vermehrung und Manipulation von *M. tuberculosis*- und *M. bovis*-Kulturen einzusetzen. Darüber hinaus erfordern Tierstudien ebenfalls besondere Verfahren.¹³

Aufbewahrung

Röhrchen und Fläschchen nach Erhalt bei 2 - 8 °C im Dunkeln aufbewahren. Nicht einfrieren oder überhitzen. Erst unmittelbar vor Gebrauch öffnen. Vor Lichteinwirkung schützen. Gemäß Kennzeichnung aufbewahrte Nährmedien können bis zum Verfallsdatum inokuliert und über die empfohlene Zeit inkubiert werden. Das Medium vor der Inokulation auf Raumtemperatur erwärmen lassen.

Haltbarkeit des Produkts

Röhrchen oder Fläschchen bei Anzeichen von Kontamination durch andere Mikroorganismen, Verfärbung, Eintrocknen oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.

VIII PROBENENTNAHME UND -HANDHABUNG

Kultivierbare Proben können auf unterschiedliche Weise gehandhabt werden. Detaillierte Informationen sind der einschlägigen Fachliteratur zu entnehmen.^{15,16} Die Probenentnahme sollte vor der Verabreichung von Antibiotika erfolgen. Für einen umgehenden Transport zum Labor ist zu sorgen.

IX VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Löwenstein-Jensen Medium oder
Löwenstein-Jensen Medium with 5% Sodium Chloride

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien, Qualitätskontrollorganismen und Laborgeräte nach Bedarf.

Testverfahren

Antiseptische Vorsichtsmaßnahmen beachten.

Die Testverfahren entsprechen den von den CDC (Centers for Disease Control and Prevention) für die primäre Isolierung von Proben, die Mykobakterien enthalten.¹⁰ N-Acetyl-L-Cystein-Natriumhydroxid (NALC-NaOH)-Lösung wird als sanftes jedoch wirksames Aufschluss- und Dekontaminierungsmittel

empfohlen. Diese Reagenzien sind im **BBL MycoPrep Mycobacterial Specimen Digestion/Decontamination Kit** enthalten. Nähere Informationen zur Dekontamination und Kultivierung sind der entsprechenden Fachliteratur zu entnehmen.^{10, 16-18}

Die Testbehälter nach der Inokulation vor Licht schützen und in einem geeigneten System aufbewahren, das eine aerobe Atmosphäre, angereichert mit Kohlendioxid, bietet. Die inokulierten Schrägagars und Fläschchen bei 35 ± 2 °C inkubieren.

Schrägagar- und Fläschchenmedien sollten in waagerechter Lage inkubiert werden, bis das Inokulum absorbiert ist. Bei Röhrchen und Fläschchen sollten die Verschlusskappen die ersten 3 Wochen locker aufgesetzt sein, um eine Zirkulation des Kohlendioxids zur Stimulierung des Wachstums zu ermöglichen. Die Kappen anschließend festdrehen, um eine Dehydrierung zu verhindern. Ein Mal pro Woche für einen kurzen Zeitraum lösen. Bei Platzproblemen die Röhrchen aufrecht hinstellen.

HINWEIS: Kulturen aus Hautläsionen, von denen vermutet wird, sie seien *M. marinum* oder *M. ulcerans* sollten zur primären Isolierung bei 25 – 33 °C inkubiert werden; Kulturen, von denen vermutet wird, sie enthielten *M. avium* oder *M. xenopi* zeigen ihr optimales Wachstum bei 40 – 42 °C.¹⁰ Eine Kultur zur Doppelbestimmung bei 35 – 37 °C inkubieren.

Das empfohlene Verfahren für den semiquantitativen Katalasetest unter Verwendung von Agar-Ausgießröhrchen mit Löwenstein-Jensen-Medium ist das folgende:¹⁰

1. Die Oberfläche des Mediums entweder mit 0,1 mL einer 7 Tage alten Bouillonkultur oder einer Öse voll Wachstum eines aktiv wachsenden Schrägagars eines jeden Teststamms inokulieren. Zudem Röhrchen mit einer Kultur, die größere Mengen Katalase produziert, z.B. *M. kansasii*, und einem schwachen Enzymstamm, z.B. *M. intracellulare*, als Kontrollen inokulieren.
2. Mit lockeren Verschlusskappen 2 Wochen lang bei 35 ± 2 °C inkubieren.
3. Eine Mischung aus Polysorbat 80 und Wasserstoffperoxid zu gleichen Teilen wie folgt präparieren:
 - a) Autoklavierte, 10%ige Polysorbat 80-Lösung in destilliertem Wasser oder eine Verdünnung von 1 mL sterilem Polysorbat 80 in 9 mL destilliertem Wasser.
 - b) Wasserstoffperoxid (30 %).
4. Jeder Kultur 1 mL Polysorbate 80-Peroxidmischung zugeben. Nach 5 Min die Höhe der Blasensäule in mm messen.

Das empfohlene Verfahren für den Natriumchlorid-Toleranztest ist das folgende:^{10,17}

1. Eine Suspension einer aktiv wachsenden Subkultur in Middlebrook-7H9-Bouillon anlegen, die dem McFarland-Trübheitsstandard Nr. 1 entspricht.
2. 0,1 mL der standardisierten Kultur auf einem Schrägagar eines Löwenstein-Jensen-Mediums mit 5 % Natriumchlorid inokulieren. Einen Schrägagar des Mediums ohne NaCl als Wachstums-Kontrollröhrchen auf dieselbe Weise inokulieren.
3. Eine Woche mit lockeren Verschlusskappen in einem flachen Gestell in einer CO₂-angereicherten Atmosphäre bei 28 – 30 °C (schnell wachsende Formen) oder bei 35 ± 2 °C (langsam wachsende Formen) inkubieren.
4. Wöchentlich auf Wachstum überprüfen. Die Inkubation gegebenenfalls noch 3 weitere Wochen fortsetzen.

Qualitätssicherung durch den Anwender

Siehe „Qualitätskontrollverfahren“.

Es sind die geltenden gesetzlichen und behördlichen und in den Akkreditierungsbedingungen festgelegten Vorschriften zur Qualitätskontrolle sowie die laborinternen Standardvorgaben zur Qualitätskontrolle zu beachten. Benutzer sollten die relevanten CLSI-Dokumente und CLIA-Vorschriften über geeignete Testverfahren zur Qualitätskontrolle einsehen.

X ERGEBNISSE

Die Kulturen sollten innerhalb von 5 bis 7 Tagen nach der Inokulation und anschließend bis zu 8 Wochen wöchentlich überprüft werden.

Zu dokumentierende Beobachtungen:

1. Die Anzahl der Tage, die vergangen sind, bis die Kolonien makroskopisch sichtbar wurden.
Schneller wachsende Mykobakterien bilden innerhalb von 7 Tagen reife Kolonien, langsamer wachsende Mykobakterien benötigen länger als 7 Tage für die Bildung reifer Kolonieförmungen.
2. Pigmentbildung
Weiß, creme- oder lederfarben = nonchromogen (NC)
Zitronenfarben, gelb, orange, rot = chromogen (Ch)

Gefärbte Abstriche können säurefeste Bazillen aufweisen, die jedoch erst dann als „säurefest“ interpretiert werden, wenn definitive Tests durchgeführt wurden.

Die Fläschchen können für die Untersuchung unter dem Dissektionsmikroskop umgedreht werden. Bei 10-60facher Vergrößerung mit durchscheinendem Licht untersuchen. Bei 10-20facher Vergrößerung zügig auf das Vorhandensein von Kolonien scannen. Eine bessere Vergrößerung (30-60fach) hilft bei der Beobachtung der Koloniemorphologie, z. B. bei schnurähnlichen Kolonien in Serpentinform.

Beim semiquantitativen Katalasetest lassen sich die meisten Mykobakterien in zwei Gruppen untergliedern.^{8,10,16}

1. Die Blasensäule ist größer als 45 mm.

M. chelonae
M. fortuitum
M. gordonae
M. kansasii (klinisch signifikant)
M. scrofulaceum

2. Die Blasensäule ist kleiner als 45 mm.

M. avium
M. bovis
M. gastri
M. haemophilum
M. intracellulare
M. kansasii (klinisch nicht signifikant)
M. malmoense
M. marinum
M. tuberculosis
M. xenopi

Das Vorhandensein oder Nichtvorhandensein von Wachstum im Röhrchen, dass das Medium mit 5 % NaCl enthält, hilft bei der Differenzierung von mykobakteriellen Isolaten. Der Salztoleranztest ist positiv, wenn auf dem Kontrollmedium unzählige Kolonien erscheinen und mehr als 50 Kolonien auf dem Medium mit 5 % NaCl wachsen.^{10,17} Kolonien auf dem Kontrollmedium, jedoch kein sichtbares Wachstum auf dem Testmedium nach einer Gesamtinkubationszeit von 4 Wochen wird als negativer Test gewertet.^{10,16,17}

XI VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Zum Nachweis müssen die Organismen in Reinkultur vorhanden sein. Für die endgültige Identifizierung sollten morphologische, biochemische oder serologische Tests durchgeführt werden. Detaillierte Informationen und empfohlene Verfahren sind der einschlägigen Fachliteratur zu entnehmen.^{15,16,19}

XII LEISTUNGSMERKMALE

Löwenstein-Jensen-Medium

In einer Untersuchung von Palaci et al., wurden 85 Atemwegsproben per Standardverfahren auf Löwenstein-Jensen (LJ)-Schrägagar und in **BBL MGIT**-Röhrchen inokuliert. Für *M. tuberculosis* wurden fünfundzwanzig (25) positive Proben gefunden. Die Kulturempfindlichkeit für LJ und **MGIT** betrug 96,1 % (25 von 26 positiven Kulturen). Obgleich die Nachweisdauer in den **MGIT**-Röhrchen deutlich kürzer war, gab es bei einem Vergleich der beiden Methoden keinen signifikanten Unterschied in der Nachweisempfindlichkeit von *M. tuberculosis*.²⁰

Löwenstein-Jensen-Medium, Ausgießröhrchen

Vor der Freigabe werden alle Chargen von Löwenstein-Jensen-Medium, Ausgießröhrchen auf ihre spezifischen Leistungsmerkmale getestet. Die Proben werden mit *M. fortuitum* (ATCC 6841), *M. intracellulare* (ATCC 13950), *M. kansasii* (ATCC 12478), *M. scrofulaceum* (ATCC 19981) und *M. tuberculosis* (ATCC 25177) getestet, wobei sie mit 0,2 mL Middlebrook-7H9-Bouillonsuspensionen inokuliert werden. Die Röhrchen werden mit gelösten Kappen bis zu 3 Wochen lang bei 35 – 37 °C inkubiert. Eine Mischung aus Polysorbat 80 und Wasserstoffperoxid wird präpariert und jeder Kultur wird 1 mL zugegeben. Nach 5 min wird die Höhe der Blasensäule gemessen. Eine positive Katalasereaktion wird durch eine Blasensäule, die größer als 45 mm ist, angezeigt. Eine negative Reaktion wird durch eine Blasensäule, die kleiner als 45 mm ist, angezeigt. Eine positive Katalasereaktion lässt sich bei *M. fortuitum*, *M. kansasii* und *M. scrofulaceum* beobachten. Eine negative Katalasereaktion lässt sich bei *M. intracellulare* und *M. tuberculosis* beobachten.

Löwenstein-Jensen-Medium mit 5 % Natriumchlorid


Vor der Freigabe werden alle Chargen von Löwenstein-Jensen-Medium mit 5 % Natriumchlorid auf ihre spezifischen Leistungsmerkmale getestet. Die Proben werden mit Zellsuspensionen von *M. fortuitum* (ATCC 6841) und *M. kansasii* (ATCC 12478) getestet, die in BBL Middlebrook-7H9-Bouillon verdünnt werden, bis sie 10^3 – 10^4 KBE ergeben. Die Röhrchen werden mit locker aufgesetzten Kappen in einer CO₂-angereicherten Atmosphäre 7 bis 14 Tage lang bei 35 – 37 °C inkubiert. Bei *M. fortuitum* lässt sich ein mittleres bis starkes Wachstum beobachten. *M. kansasii* ist gehemmt.


XIII LIEFERBARE PRODUKTE

Best.- Nr.	Beschreibung
221115	BBL Löwenstein-Jensen Medium Mycoflask , Packung mit 10 Fläschchen
221116	BBL Löwenstein-Jensen Medium Mycoflask , Karton mit 100 Fläschchen
220908	BBL Löwenstein-Jensen Medium Slants, Packung mit 10 Röhrchen der Größe A
220909	BBL Löwenstein-Jensen Medium Slants, Karton mit 100 Röhrchen der Größe A
221387	BBL Löwenstein-Jensen Medium Slants, Packung mit 10 Röhrchen der Größe C
221388	BBL Löwenstein-Jensen Medium Slants, Karton mit 100 Röhrchen der Größe C
221257	BBL Löwenstein-Jensen Medium Deeps, Packung mit 10 Röhrchen der Größe A
295701	BBL Löwenstein-Jensen Medium, 30-mL-Fläschchen, Karton mit 100 Fläschchen
221896	BBL Löwenstein-Jensen Medium with 5% Sodium Chloride Slants, Packung mit 10 Röhrchen der Größe C

XIV LITERATUR

1. Lowenstein, E. 1931. Die Züchtung der Tuberkelbazillen aus dem strömenden Blute. Zentralbl. Bakteriologie. Parasitenkunde. Infektionskrankheiten. Hygiene. Abteilung I. Original. 120:127.
2. Lowenstein, E. 1933. Der kulturelle Nachweis von Tuberkelbazillen in Milch auf Malachitgrün-Einährboden. Ann. Inst. Pasteur. 50:161.
3. Sonnenschein. 1930. Dtsch. tierärztliche Wehnschr. 38:115.
4. Hohn, J. 1931. Der Z-Einährboden zur Kultur des Tuberkelbazillus. Zentralbl. Bakteriologie. Parasitenkunde. Infektionskrankheiten. Hygiene. Abteilung I. Original. 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. Rinzüchtung und Typenbestimmung von Tuberkelbazillensammlungen. Zentralbl. Bakteriologie. Parasitenkunde. Infektionskrankheiten. Hygiene. Abteilung I. Original. 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. Tenover, 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