

Loewenstein-Jensen agar

 25

REF 55244

Mediu pentru izolarea micobacteriilor



0001100 - 2021/01

IdU conforme cu Regulamentul (UE) 2017/746.

Modificările aduse versiunii anterioare sunt evidențiate cu gri. Dacă titlul unui paragraf este evidențiat cu gri, înseamnă că s-au adus modificări majore conținutului paragrafului; vă rugăm să îl citiți cu atenție.

BIO-RAD

Cuprins

1.	DESTINAȚIA DE UTILIZARE	3
2.	PRINCIPIILE TESTULUI.....	3
3.	REACTIVI	3
4.	AVERTISMENT ȘI PRECAUȚII.....	3
5.	PROCEDURĂ.....	4
6.	PERFORMANȚA/CONTROLUL CALITĂȚII TESTULUI.....	4
7.	CONTROLUL CALITĂȚII PRODUCĂTORULUI	4
8.	LIMITĂRILE TESTULUI.....	4
9.	REFERINȚE BIBLIOGRAFICE	5

1. DESTINAȚIA DE UTILIZARE

Loewenstein-Jensen agar este un mediu de izolare bogat selectiv utilizat ca instrument auxiliar în diagnosticarea afecțiunilor micobacteriene prin facilitarea proliferării micobacteriilor, în special a *M. tuberculosis* și a micobacteriilor atipice, din probe clinice patologice, precum probe de spută. Este recomandat pe scară largă pentru cultura tuberculozei de către OMS [1].

Acest mediu poate fi, de asemenea, utilizat pentru subculturi și conservarea tulpinilor bacilare. De asemenea, poate fi utilizat pentru subcultura tulpinilor micobacteriene pentru a obține culturi pure și apoi pentru a determina profilul de susceptibilitate al micobacteriilor la anumite antibiotice.

2. PRINCIPIILE TESTULUI

Proliferarea micobacteriilor este favorizată de substanțele nutritive oferite, printre altele, de ou și de oligoelemente. Prezența glicerolului favorizează proliferarea *M. tuberculosis* [1]. Selectivitatea mediului se bazează pe prezența verdei de malachit și a sărurilor minerale, care inhibă proliferarea majorității microorganismelor contaminante.

3. REACTIVI

3.1. Descriere

Identificare pe etichetă	Nr. catalog	Prezentare
Loewenstein-Jensen agar	55244	25 de eprubete înclinate cu dop filetat x 7 ml

Formulă aproximativă a mediului* (g/l)

Mediul Loewenstein-Jensen agar se prepară conform formulei teoretice descrise de E. Loewenstein [2] și modificate de K. A. Jensen [3].

Fosfat de monopotasiu	2,4
Sulfat de magneziu	0,24
Citrat de magneziu	0,6
Asparagină (anhidă)	3,6
Amidon de cartofi	30
Glicerol	12
Verde de malachit	0,4
Suspensie de ou	1000 ml

* Formulă optimizată pentru performanță maximă.

3.2. Cerințe de depozitare și manipulare

Eprubetele pot fi utilizate până la data de expirare menționată pe ambalaj.

Prezentare	Conservare
Eprubete	+ 2-8°C, în poziție orizontală și la întuneric, preferabil în ambalajul original.

4. AVERTISMENT ȘI PRECAUȚII

- Pentru uz diagnostic *in vitro*.
- Dispozitiv destinat utilizării de către personal calificat, exclusiv într-un mediu de laborator.
- În atenția pacienților/utilizatorilor/terților din Uniunea Europeană și din țări cu regim de reglementare identic (Regulamentul 2017/746/UE privind dispozitivele medicale pentru diagnostic *in vitro*): vă rugăm să raportați producătorului și autorității naționale competente orice incident grav survenit în timpul utilizării dispozitivului sau ca urmare a utilizării acestuia.

4.1. Măsurile de precauție legate de sănătate și siguranță

- Acest kit de testare trebuie manipulat doar de către personal calificat, instruit în proceduri de laborator și familiarizat cu potențialele pericole ale acestora. Purtați îmbrăcăminte de protecție, mănuși și protecție pentru ochi/față corespunzătoare și manipulați în mod corect, conform bunelor practici de laborator.
- Deversări de produse biologice: Deversările de materiale provenite din surse umane trebuie tratate ca fiind potențial infecțioase.
Deversările care nu conțin acid trebuie decontaminate imediat, incluzând zona deversării, materialele și orice suprafețe sau echipamente contaminate, cu un dezinfectant chimic adecvat care este eficient pentru potențialele pericole biologice (în mod normal, o soluție cu o diluție de 1:10 de înălbitor de uz casnic, 70-80% etanol sau izopropanol, un iodoform, precum Wescodyne Plus 0,5% etc.) și apoi șterse.
Deversările care conțin acid trebuie absorbite (șterse) sau neutralizate în mod corespunzător, zona trebuie spălată cu apă și ștersă până când se usucă. Materialele utilizate pentru absorbirea produsului vărsat pot necesita eliminarea la deșeurile cu risc biologic. Zona trebuie decontaminată cu un dezinfectant chimic.
- Eliminați toate probele și materialele utilizate pentru efectuarea testului ca și cum ar conține un agent infecțios. Deșeurile de laborator, chimice sau cu risc biologic ridicat trebuie manipulate și eliminate în conformitate cu toate reglementările locale, regionale și naționale.
- Pentru recomandări privind pericolele și precauțiile asociate anumitor componente chimice din acest mediu, vă rugăm să consultați codurile H și P menționate pe etichete și informațiile furnizate la finalul acestor instrucțiuni de utilizare. Fișa cu date de securitate este disponibilă la www.bio-rad.com.

4.2. Precauții asociate procedurii

4.2.1. Pregătire

- Nu utilizați eprubetele dacă prezintă orice semne de contaminare sau orice altă urmă de deteriorare.
- Nu utilizați eprubete expirate.
- Înainte de utilizare, așteptați timp de 10 minute pentru stabilizarea eprubetelor la temperatura camerei (18-30°C).

4.2.2. Procesare

- Respectarea instrucțiunilor de utilizare este obligatorie pentru asigurarea funcționării corespunzătoare a acestui produs.
- Efectuați testul la temperatura camerei (18-30 °C).
- Respectați tehnicile aseptice în timpul utilizării eprubetelor.
- Manipularea probelor biologice care pot conține micobacterii necesită aplicarea măsurilor tehnice preventive [4, 5] și respectarea standardelor de siguranță aplicabile microorganismelor de clasa III.
- Toate probele biologice pot fi inoculate în mediu, cu condiția ca, în prealabil, să fi fost supuse **fluidificării și decontaminării**. Pentru depozitarea probelor biologice, consultați recomandările curente [5].
- Cantitatea de microorganisme din probe poate fi mică. Proba va fi concentrată prin centrifugare pentru a intensifica sensibilitatea de detecție.

5. PROCEDURĂ

5.1. Materiale necesare

5.1.1. Materiale furnizate

Loewenstein-Jensen agar

5.1.2. Materiale necesare, dar nefurnizate

- Apă distilată sterilă
- Ansă
- Capac de plastic
- Glicerol pentru bacteriologie
- Centrifugă

5.2. Procedură de testare

5.2.1. Inoculare

- **Cultură:** Inoculați direct din proba patologică ce va fi examinată.
- **Subcultură:** Preparați o suspensie prin adăugarea a 3 ml de apă distilată sterilă la peletul de centrifugare omogenizat bogat în bacili și inoculați 0,2 ml de suspensie per eprubetă.

5.2.2. Incubare

- Incubați timp de 28 de zile la temperaturi de 35-37°C în poziție orizontală.
- După dispariția inoculului (3 sau 4 zile), închideți ermetic eprubetele fie cu dopul filetat, fie cu un capac din plastic.

5.2.3. Citire

- Enumerarea și examinarea morfologică a coloniilor trebuie efectuate între a 2-a și a 8-a săptămână după inoculare.
- Coloniile de bacili tuberculoși au un aspect tipic numai când mediul este bine oxigenat, iar partea lichidă a inoculului s-a evaporat complet. Eprubetele trebuie închise doar după evaporarea completă.
- Coloniile tipice de *M. tuberculosis* cu proliferare lentă (de exemplu, care apar doar la trei săptămâni după inoculare [1]) sunt rugoase, sfărâmițoase, ceroase, nepigmentate (de culoare crem).

6. PERFORMANȚA/CONTROLUL CALITĂȚII TESTULUI

- Aspectul mediului gata de utilizare: pantă de agar opac verde pal.
- Performanța de creștere a mediului Loewenstein-Jensen este verificată cu următoarele tulpini:

Tulpini	Rezultatele culturii după 28 de zile la temperatura de 37°C
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> CIP 64.31	Creștere bună
<i>Mycobacterium aurum</i> tulpina Rebuffet	Creștere bună

7. CONTROLUL CALITĂȚII PRODUCĂTORULUI

Toți reactivii produși sunt preparați în conformitate cu sistemul nostru de calitate, începând de la recepția materiei prime până la comercializarea finală a produsului. Fiecare lot este supus evaluărilor de control al calității și este introdus pe piață numai dacă respectă criteriile de acceptare predefinite. Documentele cu privire la producția și controlul fiecărui lot în parte sunt păstrate de Bio-Rad.

8. LIMITĂRILE TESTULUI

- În afară de micobacterii, și *Nocardia* crește pe Loewenstein-Jensen agar [7].
- Este preferabil să se utilizeze agar Coletsos (de exemplu, nr. de catalog Bio-Rad 53154) pentru culturi de *M. bovis*.
- Absența creșterii nu înseamnă neapărat absența infecției micobacteriene. Unii factori pot împiedica proliferarea micobacteriilor.
- Trebuie efectuate teste complementare pentru a identifica speciile de tulpini izolate.

9. REFERINȚE BIBLIOGRAFICE

1. Narvaiz de Kantor I et al. Laboratory services in tuberculosis control. Part III: Culture. World Health Organization. pp. 47-48. 1998.
2. Loewenstein E. Die Züchtung der Tuberkelbazillen aus dem strömenden Blute. Zentralbl Bakteriologie Parasitenkunde Infektionskrankheiten Hygiene Abteilung 1 Original, 120:127-129. 1931
3. Jensen KA. Reinzüchtung und Typenbestimmung von Tuberkelbazillenstämmen : Ein Vereinfachung der Methoden für die Praxis. Zentralbl Bakteriologie Parasitenkunde Infektionskrankheiten Hygiene Abteilung 1 Original 125:222-239. 1932
4. Mesures techniques de prévention, notamment de confinement, à mettre en œuvre dans les industries et les laboratoires de recherche et d'enseignement où les travailleurs sont susceptibles d'être exposés à des agents biologiques pathogènes. Journal Officiel de la République Française. Arrêté du 13 août 1996.
5. Kent P.T., and Kubiga G.P. Public health mycobacteriology: a guide for the level III laboratory. USDHMS, Centers for Disease Control, Atlanta. 1985.
6. Basic Laboratory Procedures Clinical Bacteriology. World Health Organization. Geneva. 1st edition. 1991.
7. Hosty, T.J. et al., J. Clin. Med., 58:107, 1961.

BIO-RAD este o marcă comercială a Bio-Rad Laboratories, Inc.

Toate mărcile comerciale utilizate în prezentul document sunt proprietatea deținătorilor respectivi.



Bio-Rad
3, boulevard Raymond Poincaré
92430 Marnes-la-Coquette France
Fax : +33 (0) 1 47 41 91 33
Tel. : +33 (0) 1 47 95 60 00
www.bio-rad.com



2021/01
0001100