



**BBL Lowenstein-Jensen Medium**  
**BBL Lowenstein-Jensen Medium with 5% Sodium Chloride**  
**L007464 • Преглед 11 • Октомври 2015**



**ПРОЦЕДУРИ ЗА КАЧЕСТВЕН КОНТРОЛ (По желание)**

**I ВЪВЕДЕНИЕ**

Средата Lowenstein-Jensen (Lowenstein-Jensen Medium) се използва за изолиране и култивиране на микобактерии. Средата, поставена в епруветки като редици, се използва за полуколичествен каталазен тест като помощ при класифицирането на микобактерии.

**II РАБОТНА ТЕСТОВА ПРОЦЕДУРА**

**A. Процедура на приготвяне на инокулат**

1. Инокулирайте скосени стъкла със среда Lowenstein-Jensen с чисти култури от подходящи микобактериални щамове, като използвате стерилни инокулационни пръчици.
2. Инкубирайте епруветките с разхлабени капачки в аерозолна атмосфера, допълнена с въглероден двуокис при  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  докато се получи плътен растеж (обикновено в рамките на 2 до 3 седмици).
3. Съберете растежа със стерилна заострена апликационна пръчица, като леко отделяте клетките от повърхността на средата, внимавайки да не вземете културална среда с клетките.
  - a. За *Mycobacterium tuberculosis* ATCC 25177:
    - (1) Прехвърлете растеж към 5,0 mL бульон Middlebrook 7H9 с глицерол в стерилна епруветка с капачка, съдържаща стерилни стъклени гранули.
    - (2) Разклатете с въртеливо движение (няколко минути) докато в суспензията изчезнат големите бучки.
    - (3) Нагласете суспензията на стандарт McFarland #1 с нефелометър. Суспензията трябва да е по-мътна от стандарта.
    - (4) Оставете епруветката на поставка за 2 до 3 на стайна температура, за да може големите частици да се утаят на дъното.
    - (5) Прехвърлете супернатантната течност в стерилен контейнер.
    - (6) Нагласете мътността на суспензията на стандарт McFarland #1, като бавно добавяте бульон Middlebrook 7H9 с глицерол. Разбъркайте добре.
    - (7) Разреждете до  $10^5$  CFU/mL преди употреба. Разбъркайте добре и щрихово посейте, като използвате 0,01 mL калибрована примка.
  - b. За всички други микобактериални щамове:
    - (1) Прехвърлете растежа в 50 mL стерилна центрофужна епруветка с винтова капачка, съдържаща 8 до 12 стъклени гранули (2 mm диаметър) и 5 mL микобактериален разреждател, приготвен както следва:
      - Смесете следващите съставки в 1 L колба и нагласете pH, като използвате 1N сода каустик, на 6,7 до 7,0  
Волски албумин (без мастни киселини) ..... 1,0 g  
Полисорбат 80 ..... 0,1 mL  
Дестилирана вода ..... 500 mL
      - Стерилизирайте чрез мембранна филтрация (филтър 0,2  $\mu$ )
      - Асептично разпределете по 5,5 mL в стерилните епруветки с капачки.
    - (2) Емулгирайте микобактериалния растеж от стената на центрофужната епруветка, като използвате апликаторна пръчица. Разбъркайте растежа с разреждателя.
    - (3) Затворете епруветката и клатете с въртеливо движение приблизително 10 min, докато растежа е добре суспендиран и без големи бучки.
    - (4) Добавете 15 mL от стерилния микобактериален разреждател и смесете напълно.
    - (5) Нагласете суспензията на стандарт McFarland #1 с нефелометър. Суспензията трябва да е по-мътна от стандарта.
    - (6) Оставете епруветката на поставка за 2 до 3 h на стайна температура, за да може големите частици да се утаят на дъното.

- (7) Аспирирайте супернатантната течност и я прехвърлете в стерилен контейнер. Суспензията трябва да е по-мътна от стандарт McFarland #1 и без големи бучки. Ако все още има големи бучки, разбъркайте и оставете за още 1 h. Прехвърлете супернатанта в стерилен контейнер.
- (8) Нагласете мътността на суспензията на стандарт McFarland #1, като бавно добавяте стерилен микобактериален разреждател. Разбъркайте добре.
- (9) Разпределете дозите от суспензията във фризерни флакони, надписани с идентификацията на организма и датата на приготвяне.
- (10) Замразете суспензиите, като поставите флаконите в нискотемпературен фризер при -60°C. Флаконите може да се съхраняват до 6 месеца.
- (11) За употреба извадете флакона от фризера и бързо размразете на водна баня при 30 до 35°C. Разреждете до 10<sup>5</sup> CFU/mL преди употреба. Разбъркайте добре и шрихово посейте, като използвате 0,01 mL калибрована примка.

## В. Процедури за тестова среда

### Редици среда Lowenstein-Jensen

1. Инокулирайте челните повърхности със стерилна инокулатна примка 0,01 mL, като използвате култури, приготвени, както е посочено по-нагоре.
2. Инкубирайте епруветките при 35 ± 2°C в аеробна атмосфера, допълнена с въглероден двуокис.
3. След 14 дни инкубация добавете към всяка култура по 1,0 mL смес на полисорбат 80 - пероксид, приготвен както следва:
  - a. 30% водороден пероксид. Съхранявайте в хладилник.
  - b. 10% полисорбат 80, приготвен както следва:
    - (1) Смесете 10 mL полисорбат 80 с 90 mL дестилирана вода.
    - (2) Поставете в автоклав при 121°C за 10 min.
    - (3) Съхранявайте в хладилник.
  - c. Точно преди тестването смесете равни части от двата разтвора.
4. Оставете културите в изправено положение за 5 min на стайна температура.
5. Измерете (mm) височината на колоната мехурчета над повърхността на средата.
6. Очаквани резултати

### Колона мехурчета с височина над 45.

<i>*Mycobacterium kansasii</i> , Група I	ATCC 12478
<i>Mycobacterium scrofulaceum</i> , Група II	ATCC 19981
<i>Mycobacterium fortuitum</i> , Група IV	ATCC 6841

### Колона мехурчета с височина под 45.

<i>*Mycobacterium tuberculosis</i> H37Ra	ATCC 25177
<i>Mycobacterium intracellulare</i> , Група III	ATCC 13950

\*Препоръчителни щамове на организми за качествен контрол.

### Скосени стъкла и флакони със среда Lowenstein-Jensen

1. Инокулирайте представителните образци с посочените по-долу култури.
  - a. Със стерилни калибровани примки 0,01 mL за еднократна употреба, инокулирайте скосените стъкла и флакони, като използвате микобактериални култури, приготвени както бе описано по-нагоре.
  - b. Инкубирайте контейнерите с разхлабени капачки при 35 ± 2°C в аеробна атмосфера, допълнена с въглероден двуокис.
2. Проверявайте епруветките или флаконите след 7, 14 и 21 дни за растеж, селективност и пигментация.
3. Очаквани резултати
  - a. За среда Lowenstein-Jensen

CLSI организми	ATCC	Възстановяване
<i>*Mycobacterium tuberculosis</i> H37Ra	25177	Растеж
<i>*Mycobacterium kansasii</i> , Група I	12478	Растеж
<i>*Mycobacterium scrofulaceum</i> , Група II	19981	Растеж
<i>*Mycobacterium intracellulare</i> , Група III	13950	Растеж
<i>*Mycobacterium fortuitum</i> , Група IV	6841	Растеж

- b. За среда Lowenstein-Jensen с 5% натриев хлорид

Организми	АТСС	Възстановяване
* <i>Mycobacterium fortuitum</i>	6841	Растеж
* <i>Mycobacterium kansasii</i>	12478	Липсва растеж

\*Препоръчителни щамове на организми за качествен контрол.

### III ДОПЪЛНИТЕЛЕН КАЧЕСТВЕН КОНТРОЛ

1. Проверете епруветките или флаконите, както е указано във "Влошаване на продукта".
2. Визуално проверявайте представителните епруветки или флакони, за да сте сигурни, че няма налице физически дефект, който да попречи на употребата.
3. Определете рН потенциометрично на стайна температура за спазване на специфицираната стойност от  $7,0 \pm 0,2$ .
4. Инкубирайте неинокуираните представителни епруветки или флакони при 20 до 25°C и 30 до 35°C и проверете след 7 и 14 дни за микробиологично замърсяване.

### ИНФОРМАЦИЯ ЗА ПРОДУКТА

### IV ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Средата Lowenstein-Jensen се използва за култивиране на *Mycobacterium tuberculosis* и други микобактериални видове.

### V ОБЩО ОПИСАНИЕ И ОБЯСНЕНИЕ

Lowenstein първоначално формулира среда за култивиране на микобактерии, в които конгоанско червеното и малхитово зеленото се включваха за частичното задържане на други бактерии.<sup>1,2</sup> Тези оцветявания бяха използвани по подобен начин от други изследователи, особено Sonnenschein<sup>3</sup> и Hohn.<sup>4</sup> В САЩ бяха популярни тинтявено виолетовите среди на Corper<sup>5</sup> и Petroff<sup>6</sup>, заедно със средата на Petragani, която съдържаше малахитово зелено. Настоящата формула, разработена от Jensen,<sup>7</sup> има леко различно съдържание на цитрат и фосфат, не съдържа конгоанско червено и има повишена концентрация на малахитово зелено.

Приготвените от BBL продукти за среда Lowenstein-Jensen включват затворени в епруветки скосени агари за употреба при култивиране на видове *Mycobacterium* флакони за употреба, когато се иска по-голяма повърхност и затворени в епруветки редици за провеждането на полу – количествен каталазен тест. Тази последна процедура бе разработена от Wayne<sup>8</sup> и е полезна за класификацията на микобактерии.

В допълнение, средата се доставя с добавяне на 5% натриев хлорид, тъй като възможността да толерират 5% натриев хлорид е характерно за определени щамове на микобактерии, (напр. *M. fortuitum* и *M. chelonae* subsp. *abscessus*).<sup>9</sup> Повечето бързорастящи, бавнорастящата *M. triviale* и някои щамове на *M. flavescens* също растат в среда, съдържаща NaCl. Неспособността на *M. chelonae* subsp. *chelonae* да расте помага да се диференцира от другите представители на комплекс *M. fortuitum* (напр., *M. chelonae* subsp. *abscessus*).<sup>9,10</sup>

### VI ПРИНЦИПИ НА ПРОЦЕДУРАТА

Основата на среда Lowenstein-Jensen е относително проста по състав, която изисква добавки с оглед да се подпомогне растежа на микобактерии. Преди процеса на съставяне се добавят глицерол и яйчена смес. Тези вещества осигуряват мастните киселини и протеин, необходими за метаболизма на микобактериите. Коагулацията на яйчени албумин при стерилизацията осигурява твърда среда за инокулационния процес.

### VII РЕАГЕНТИ

#### Среда Lowenstein-Jensen

Приблизителна рецепта\* за 600 mL дестилирана вода

Монокалиев фосфат	2,5 g	Картофено брашно	30,0 g
Магнезиев сулфат	0,24 g	Малахитово зелено	0,4 g
Натриев цитрат	0,6 g	Глицерол	12,0 mL
L-аспарагин	3,6 g	Цяло яйце	1 000,0 mL

\*Пригоден и/или допълнен според изискванията за удовлетворяване на критериите за ефективно функциониране.

Среда Lowenstein-Jensen с 5% натриев хлорид съдържа горните съставки заедно с 80 g натриев хлорид на 600 mL.

**Предупреждения и предпазни мерки:** а употреба при *in-vitro* диагностика.

Епруветки и флакони със затворени капачки трябва да се отварят внимателно, за да не се счути стъклото.

В клиничните проби може да присъстват патогенни микроорганизми, включително вируси на хепатит и вируса на СПИН.

"Стандартни предпазни мерки"<sup>11-14</sup> и институционалните напътствия трябва да бъдат следвани при работа с всички артикули, които са изцапани с кръв и други телесни течности. След употреба, подготвените епруветки, контейнери за проби и други контаминирани материали трябва да се стерилизират в автоклав.

Практика и процедури, задържащо оборудване и помещение с ниво за биологичната защита 2 са необходими за не – аерозолно - произвеждащи манипулации на клинични образци, както например подготовка на киселиноустойчиви натривки. Всички аерозол - произвеждащи дейности трябва да се провеждат в Клас I или II биологично безопасен

кабинет. Практика и процедури, задържащо оборудване и помещение с ниво за биологична защита 3 са необходими за лабораторни дейности в разпространението и манипулирането на култури от *M. tuberculosis* и *M. bovis*. Изследвания на животни също изискват специални процедури.<sup>13</sup>

**Инструкции за съхранение:** При получаване, съхранявайте епруветките и флаконите на тъмно от 2 – 8°C. Избягвайте замразяване или прегряване. Не отваряйте, преди да сте готови за употреба. Излагайте на светлина колкото е възможно по-малко. Средите, съхранени според обозначението преди използване, може да бъдат инокуирани до срока на годност и инкубирани за препоръчителните времена. Оставете средата да се стопли на стайна температура преди инокулация.

**Влошаване на продукта:** Не използвайте епруветки или флакони, ако те съдържат признаци на микробно замърсяване, обезцветеност, изсушаване или други признаци на увреждане.

## VIII ВЗЕМАНЕ НА ПРОБА И МАНИПУЛИРАНЕ

Пробите, подходящи за култура могат да се манипулират с различни техники. За подробна информация, се консултирайте със съответните текстове.<sup>15,16</sup> Пробите трябва да се получават преди да се приложат антимикробните агенти. Трябва да се осигури незабавна доставка до лабораторията.

## IX ПРОЦЕДУРА

**Предоставени материали:** Среда Lowenstein-Jensen или среда Lowenstein-Jensen с 5% натриев хлорид

**Необходими, но непредоставени материали:** Допълнителна културална среда, реагенти, организми за качествен контрол и лабораторно оборудване според нуждите.

**Тестова процедура:** Спазвайте асептичните техники.

Тестовите процедури са онези, препоръчани от Центрове за контрол и превенция на болести (CDC) за първична изолация от проби, съдържащи микобактерии.<sup>10</sup> Разтвор на N-ацетил-L-цистеин-натриев хидроокис (NALC-NaOH) се препоръчва като лек, но ефективен агент за смилане и обеззаразяване. Тези реагенти се доставят с Комплект за смилане/обеззаразяване на микобактериални проби **BBL MycoPrep**. За подробни инструкции по обеззаразяване и отглеждане на култури вижте съответната справочна литература.<sup>10,16-18</sup>

След инокулацията пазете тестовите контейнери от светлина и ги поставете в подходяща система, осигуряваща аеробна атмосфера, обогатена с въглероден двуокис. Инкубирайте инокуираните скосени стъкла и флакони при 35 ± 2°C.

Скосената и флаконизирана среда трябва да се инокулира в хоризонтална равнина докато се абсорбира инокулата. Епруветките и флаконите трябва да са с разхлабени капачки за първите 3 седмици, за да се улесни циркулацията на въглероден двуокис за инициирането на растеж. След това, за да се предотврати дехидратация, затворете капачките; отваряйте за малко веднъж на седмица. Изправете епруветките, ако има проблем с мястото.

**ЗАБЕЛЕЖКА:** Култури от кожни поражения, за които има съмнение, че са *M. marinum* или *M. ulcerans*, трябва да се инкубират при 25 до 33°C за първична изолация; култури, за които се подозира, че съдържат *M. avium* или *M. xenopi*, показват оптимален растеж при 40 до 42°C.<sup>10</sup> Инкубирайте и двете култури при 35 до 37°C.

Препоръчителната процедура за полу – количествения каталазен тест с употребата на агарни редици от среда Lowenstein-Jensen е следната:<sup>10</sup>

1. Инокулирайте повърхността на средата или с 0,1 mL 7 – дневна бульонна култура, или с примка, пълна с растеж от активно растящо скосено стъкло от всеки тестов щам. Инокулирайте също епруветки със силна култура, произвеждаща каталаза, напр. *M. kansasii*, и едноседмичен ензимен щам, напр. *M. intracellulare*, за контроли.
2. Инкубирайте епруветките с разхлабени капачки при 35 ± 2°C за 2 седмици.
3. Пригответе смес на полисорбат 80 - пероксид, като смесите равни части от:
  - a. 10% разтвор на полисорбат 80 в дестилирана вода, обработен в автоклав или разтвор на 1 mL стерилен полисорбат 80 in 9 mL дестилирана вода.
  - b. 30% водороден пероксид.
4. Добавете 1 mL смес на полисорбат 80 – пероксид към всяка култура. След 5 min запишете височината на колоната мехурчета в мм.

Препоръчителната процедура за натриев хлорид е следната:<sup>10,17</sup>

1. Направете суспензия на активно растяща субкултура в бульон Middlebrook 7H9, равен на стандарт за мътност McFarland No. 1.
2. Инокулирайте 0,1 mL от стандартизирана култура върху скосено стъкло със среда Lowenstein-Jensen Medium с 5% натриев хлорид. По подобен начин инокулирайте скосено стъкло със среда без NaCl в епруетка за контрол на растежа.
3. Инкубирайте с разхлабени капачки в атмосфера, богата на CO<sub>2</sub>, първоначално в плоска поставка за 1 седмица при 28 до 30°C за бързо растящи или 35 ± 2°C за бавно растящи бактерии.
4. Проверявайте седмично за растеж. Продължете инкубацията за три седмици, ако е необходимо.

**Потребителски качествен контрол:** Виж "Процедури за качествен контрол".

Всяка партида среди е тествана чрез подходящи организми за качествен контрол и това тестване съответства на продуктовете спецификации и стандартите CLSI, където е необходимо. Както винаги тестването за качествен контрол трябва да се извършва съобразно с приложимите местни, щатски, федерални или държавни разпоредби, изисквания за акредитация и/или стандартните процедури за качествен контрол на вашата лаборатория.

## X РЕЗУЛТАТИ

Културите трябва да се четат в рамките на 5 до 7 дни след инокулацията и след това веднъж седмично за до 8 седмици.

Запишете наблюденията:

1. Брой дни, необходими на колонии, за да станат макроскопично видими. При бързорастящи бактерии колонии може да пораснат за 7 дни; при бавнорастящите може да са необходими повече от 7 дни.
2. Произвеждане на пигмент  
Бял, кремов или светложелт = нехромогенни (NC)  
Лимонов, жълт, оранжев, червен = хромогенни (Ch)

Оцветени натривки може да покажат киселинноустойчиви бацили, които се отчитат само като "киселиноустойчиви бацили", докато не се проведат определените тестове.

Флакони може да се проверят чрез обръщане върху подставката на микроскоп с малко увеличение. Четете при 10 – 60x с проходяща светлина. Прегледайте бързо при 10 – 20x за наличие на колонии. По-голямо увеличение (30 – 60) помага при наблюдаване на морфологията на колонии, т.е. серпентино – образни колонии.

При полу – количествения каталазен тест повечето микобактерии попадат в две групи.<sup>8,10,16</sup>

1. Колона мехурчета с височина под 45 mm.

*M. chelonae*  
*M. fortuitum*  
*M. gordonae*  
*M. kansasii* (клинично важни)  
*M. scrofulaceum*

2. Колона мехурчета с височина под 45 mm.

*M. avium*  
*M. bovis*  
*M. gastri*  
*M. haemophilum*  
*M. intracellulare*  
*M. kansasii* (клинично маловажни)  
*M. malmoense*  
*M. marinum*  
*M. tuberculosis*  
*M. xenopi*

Наличието или отсъствието на растеж в епруветка среда, съдържаща 5% NaCl помага при диференциацията на микобактериални щамове. Тестът за толеранс към сол е положителен, когато многобройни колонии се появят върху контролната среда и повече от 50 колонии порастват върху средата с 5% NaCl.<sup>10,17</sup> Колонии върху контролната среда, но никакъв видим растеж върху тестовата среда след общо 4 седмици инкубация представлява отрицателен тест.<sup>10,16,17</sup>

## XI ОГРАНИЧЕНИЯ НА ПРОЦЕДУРАТА

За идентификация организмите трябва да са в чиста култура. Морфологични, биохимични и/или серологични тестове трябва да се направят за окончателна идентификация. Вижте съответните текстове за подробна информация и препоръчителни процедури.<sup>15,16,19</sup>

## XII РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

### Среда Lowenstein-Jensen

При проучване на Palaci и други, 85 респираторни проби бяха инокулирани върху скосени стъкла Lowenstein-Jensen (LJ) и в **BBL MGIT** епруветки със стандартни процедури. Двадесет и пет (25) проби бяха намерени положителни за *M. tuberculosis*. Чувствителността на културата и за LJ и за **MGIT** беше 96,1% (25 от 26 положителни култури). Въпреки че времето за откриване беше значително по-кратко в епруветките **MGIT**, нямаше значителна разлика в чувствителността на двата метода при откриването на *M. tuberculosis*.<sup>20</sup>

### Редици среда Lowenstein-Jensen

Преди доставка, всички партиди с редици среда Lowenstein-Jensen са тествани за специфични характеристики. Пробите се тестват с *M. fortuitum* ATCC 6841, *M. intracellulare* ATCC 13950, *M. kansasii* ATCC 12478, *M. scrofulaceum* ATCC 19981 и *M. tuberculosis* ATCC 25177 чрез инокулиране с 0,2 mL бульонни суспензии Middlebrook 7H9. Епруветките се инокулират с разхлабени капачки за 3 седмици при 35 - 37°C. Приготвена е смес от полисорбат 80 – пероксид и едобавен по 1 mL към всяка култура. След 5 min се записва височината на колоната мехурчета в mm. Колона

мехурчета с височина над 45 mm е положителна каталазна реакция. Колона мехурчета с височина под 45 mm е отрицателна реакция. Положителна каталазна реакция се наблюдава с *M. fortuitum*, *M. kansasii* и *M. scrofulaceum*. Отрицателна каталазна реакция се наблюдава с *M. intracellulare* и *M. tuberculosis*.

#### Среда Lowenstein-Jensen с 5% натриев хлорид

Преди доставка, всички партиди среда Lowenstein-Jensen с 5% натриев хлорид са тествани за специфични характеристики. Пробите се тестват с клетъчни суспензии на *M. fortuitum* ATCC 6841 и *M. kansasii* ATCC 12478 разредени в бульон **BBL** Middlebrook 7H9, за да се добие  $10^3$  до  $10^4$  CFU. Епруветките се инкубират с разхлабени капачки при 35-37°C за 7 до 14 дни в атмосфера, обогатена с CO<sub>2</sub>. С *M. fortuitum* се наблюдава плътен растеж. *M. kansasii* се задържа.

### XIII НАЛИЧНОСТ

Кат. No.	Описание
----------	----------

221116	<b>BD BBL</b> Lowenstein-Jensen Medium (среда) <b>Mycoflask</b> , Опаковка от 100 флакона
220908	<b>BD BBL</b> Lowenstein-Jensen Medium Slants (скосена среда), Опаковка от 10 епруветки, размер A
220909	<b>BD BBL</b> Lowenstein-Jensen Medium Slants (скосена среда), Опаковка от 100 епруветки, размер A

### XIV СПРАВОЧНА ЛИТЕРАТУРА

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. Pfaffler 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.

Техническо обслужване и поддръжка на BD Diagnostics: се свържете с местния представител на BD или [www.bd.com/ds](http://www.bd.com/ds).



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