

**ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ**

ΠΡΟΪΟΝ: **LOWENSTEIN – JENSEN MEDIUM**
ΚΩΔΙΚΟΣ: **070060**



Ημ. Έκδοσης:

7ος 2009

Ημ. Αναθεώρησης:

6ος 2024

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

Το Lowenstein Jensen medium εμπλουτισμένο με τα κατάλληλα προσθετικά χρησιμοποιείται για την καλλιέργεια του *Mycobacterium tuberculosis* και άλλων ειδών *Μυκοβακτηριδίων*.

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η αυξημένη περιεκτικότητα σε πράσινο του μαλαχίτη δρα σαν ανασταλτικός παράγοντας για την ανάπτυξη άλλων βακτηριδίων. Η γλυκερόλη και το μείγμα των αυγών προστίθεται στο υλικό πριν από την διαδικασία του Insprissator. Οι ουσίες αυτές παρέχουν λιπαρά οξέα και πρωτεΐνες που απαιτούνται για τον μεταβολισμό του μυκοβακτηριδίου. Η πήξη του λευκώματος του αυγού κατά την διάρκεια της αποστείρωσης παρέχει ένα στερεό υλικό.

ΣΥΝΘΕΣΗ	g/600ml
Asparagine	3.6
Monopotassium Phosphate	2.4
Magnesium Sulfate	0.24
Magnesium Citrate	0.6
Potato Flour	30.0
Malachite Green	0.4
Glycerol	12ml
Ολικό Αυγό	1000ml

Εμφάνιση: Γαλαζοπράσινο μη διαυγές.

Τελικό pH 7.0 ± 0.2 στους 25°C .

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Το LOWENSTEIN – JENSEN MEDIUM είναι in vitro εργαστηριακό διαγνωστικό υλικό και πρέπει να χειρίζεται μόνο από εξειδικευμένα άτομα του εργαστηρίου. Το υλικό αυτό περιέχει πεπτόνες και εκχυλίσματα ζωικής προέλευσης. Τα πιστοποιητικά για την προέλευση και την υγειονομική κατάσταση των ζώων δεν εγγυόνται πλήρως την απουσία μεταδιδόμενων παθογόνων παραγόντων. Γι' αυτό συνιστάται αυτά τα υλικά να αντιμετωπίζονται ως δυνητικώς μολυσματικά και με τήρηση των συνήθων μέτρων ασφαλείας (να μη λαμβάνονται από την πεπτική ή την αναπνευστική οδό). Ο χειρισμός των σωληναρίων να γίνεται πάντα με γάντια και μέσα σε Laminar flow Class II, για να αποφεύγονται επιμολύνσεις κυρίως από σαπροφυτικούς μύκητες. Μη χρησιμοποιείτε τα σωληνάρια εάν παρουσιάζουν ενδείξεις μικροβιακής μόλυνσης. Μετά την ημερομηνία λήξεως το υλικό είναι ακατάλληλο για χρήση. Σε περίπτωση επαφής με το δέρμα πλύνουμε αμέσως με άφθονο νερό και σαπούνι. Τα θετικά δείγματα πρέπει να καταστρέφονται σύμφωνα με τους κανόνες υγιεινής που προβλέπονται για τη διαχείριση μολυσματικών δειγμάτων.

ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ

Τα σωληνάρια πρέπει να φυλάσσονται στους $2 - 12^\circ\text{C}$ μέσα στη συσκευασία τους μέχρι τη στιγμή της χρήσης τους. Η κατάψυξη ακόμα και στιγμιαία, καταστρέφει το υλικό. Επίσης να αποφεύγεται την υπερβολική θέρμανση. Τα σωληνάρια είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα. Για την μεταφορά οι μελέτες σταθερότητας μας έδειξαν ότι τα σωληνάρια μπορούν να παραμείνουν στους $6 - 25^\circ\text{C}$ για **10 ημέρες** ή στους $25 - 40^\circ\text{C}$ για **48 ώρες**, χωρίς να επηρεαστεί η απόδοση του προϊόντος.

ΤΡΟΠΟΣ ΧΡΗΣΗΣ

Συλλογή του δείγματος: Το μολυσματικό υλικό πρέπει να μεταφερθεί στο εργαστήριο χωρίς καθυστέρηση και να προστατευθεί από υπερβολική ζέση και κρύο. Ο χειρισμός του δείγματος να γίνεται με μεγάλη προσοχή πάντα με γάντια και μέσα σε Laminar flow Class II.

- Επεξεργαστείτε το δείγμα πτυέλων κάνοντας ρευστοποίηση και εμπλουτισμό με NaOH 4% σύμφωνα με τη μέθοδο Petrof.
- Εμβολιάστε το Lowenstein - Jensen με δείγμα μετά την απολύμανση και την εξουδετέρωση.
- Επώαστε το μέσο σε ατμόσφαιρα CO₂ στους $35 - 37^\circ\text{C}$ σε σκοτεινό θάλαμο. Τα σωληνάρια πρέπει να επώάζονται για μία εβδομάδα με χαλαρωμένα καπάκια για να επιτρέπεται η κυκλοφορία του CO₂ κατά την έναρξη της ανάπτυξης. Τα καπάκια θα πρέπει να σφίγγονται μετά από μία εβδομάδα προκειμένου να αποφευχθεί η αφυδάτωση των μέσων.
- Εξετάστε τα σωληνάρια μετά από πέντε έως επτά ημέρες και στη συνέχεια εβδομαδιαία για έως και οκτώ εβδομάδες.
- Εξετάστε τα σωληνάρια κάτω από το φως και με μεγεθυντικό φακό για την εμφάνιση τυχόν αποικιών. Έχει παρατηρηθεί ανάπτυξη αποικιών τις πρώτες δύο μέρες.

ΑΝΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΕΡΜΗΝΕΙΑ

Μετά από πέντε έως επτά ημέρες εάν υπάρχει Μυκοβακτηρίδιο θα σχηματίσει ανώμαλες ξηρές κιτρινωπές αποικίες.

Κάντε οξυάντοχη (Ziehl-Neelsen) χρώση για μια πρώτη εκτίμηση. Τα *Μυκοβακτηρίδια* παίρνουν ζωηρό κόκκινο χρώμα. Μερικές φορές το χρώμα δεν είναι ομοιογενές και φαίνεται σαν να έχει κοκκία.

Για την οριστική ταυτοποίηση απαιτούνται βιοχημικές δοκιμές.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Τα σωληνάρια πρέπει να επωάζονται σε ατμόσφαιρα 5-10% CO₂ για τον πολλαπλασιασμό των *Μυκοβακτηριδίων*. Τα *Μυκοβακτηρίδια*, για άγνωστους λόγους, δεν ανακτώνται καλά από CO₂ με τη τεχνική του κεριού. Προστατέψτε τα σωληνάρια κατά την επώαση από όλες τις πηγές φωτός, καθώς το πράσινο από το μαλαχίτη είναι πολύ φωτοευαίσθητο. Το Lowenstein - Jensen γενικά αναστέλλει, σε κάποιο βαθμό, συγκεκριμένα στελέχη οργανισμών για τα οποία είναι ευαίσθητα στο Malachite Green. Το χρώμα του LOWENSTEIN – JENSEN μπορεί να κυμαίνεται από ανοιχτό πράσινο έως σκούρο μπλε-πράσινο. Μην χρησιμοποιείτε σωληνάρια που έχουν γίνει κίτρινα, καθώς θα παρεμβαίνουν στην ερμηνεία του χρωματισμού των *Μυκοβακτηρίων*. Τα περισσότερα μολυσματικά βακτήρια θα μετατρέψουν το μέσο σε μπλε χρώμα.

ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΟΙΟΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ

Μικρόβιο	ATCC	Αποικίες
<i>Escherichia coli</i>	25922	Κίτρινες (Μερική αναστολή)
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	6841	Ανώμαλες ξηρές κίτρινωπές (Καλή ανάπτυξη)



Mycobacterium tuberculosis

ΑΠΟΡΡΙΨΗ ΤΟΥ ΥΛΙΚΟΥ ΣΤΑ ΑΠΟΒΛΗΤΑ

Τα υλικά που δεν παρουσιάζουν καμία ανάπτυξη μπορεί να θεωρηθούν ως μη επικίνδυνα απόβλητα και να απορρίπτονται ανάλογα. Τα υλικά που παρουσιάζουν ανάπτυξη αποικιών πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τις οδηγίες για μολυσματικά ή δυνητικούς μολυσματικά απόβλητα. Το εργαστήριο είναι υπεύθυνο για τη σωστή διαχείριση των μολυσματικών αποβλήτων σύμφωνα με τη φύση και το βαθμό επικινδυνότητάς τους και πρέπει να τα διαχειρίζεται και να τα απορρίπτει (ή να αναθέτει τη διαχείριση και απόρριψή τους) σύμφωνα με τους εκάστοτε ισχύοντες κανονισμούς.

ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ

LOWENSTEIN – JENSEN MEDIUM - CE

ΕΙΔΟΣ	ΚΩΔΙΚΟΣ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	ΦΥΛΑΞΗ	ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ
Σωληνάρια 8ml	070060	40 τεμάχια	2 – 12 °C	8 μήνες

Παράγεται στην Ελλάδα από την εταιρεία Bioprepare σύμφωνα με τον κανονισμό (ΕΕ) 2017/746.

ΒΑΣΙΚΟ UDI-DI: 5212037714010290WW. EDMA: (14 01 02 90) Other Media in Tubes.

Η εταιρεία Bioprepare έχει πιστοποιηθεί σύμφωνα με τα πρότυπα: EN ISO 9001:2015 / ΕΛΟΤ EN ISO 13485:2016 ΔΥ86/1348/2004.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Αντιγόνη Αρσένη. Κλινική Μικροβιολογία και Εργαστηριακή Διάγνωση. Τόμος 1. Σελ. 360-400.

Musser, J. M. 1995. Antimicrobial resistance in Mycobacteria: molecular genetic insights. Clinical Microbiology Reviews 8:496-514.

Kleitmann, W. 1995. Resistance and susceptibility testing for Mycobacterium tuberculosis. Clinical Microbiology Newsletter 17:65-69.

Nolte, F. S., and B. Methocock. 1995. Mycobacterium, p. 400-437. In P.R. Murray, E. J. Baron, M. A. Pfaller, F. C. Tenover, and R. H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

Isenberg, H. D. (ed.) 1992. Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΚΑΤΑΣΚΕΥΑΣΤΗ IN VITRO



Γ. ΠΑΠΑΝΙΚΟΛΑΟΥ & ΣΙΑ Ε.Ε.

ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Ποταμού 5 ΒΙΟ ΠΑ ΚΕΡΑΤΕΑΣ - ΑΤΤΙΚΗ ΤΚ 19001

Τ.Θ. 4893 - Τηλ.: 2299 0 66113 Φαξ: 2299 0 66112.

E-mail: bioprep1@otenet.gr www.bioprepare.gr



TECHNICAL DATA SHEET

PRODUCT: **LOWENSTEIN – JENSEN MEDIUM**
REFERENCE: **070060**



Date 1st Edition:
7th 2009
Date 4th Revision:
6th 2024

DESCRIPTION

The Lowenstein-Jensen medium, enriched with the appropriate additives, is used for the cultivation of *Mycobacterium tuberculosis* and other *Mycobacterium* species.

PRINCIPLE OF THE METHOD

The increased concentration of malachite green acts as an inhibitory agent, preventing the growth of other bacteria. Glycerol and a mixture of eggs are added to the medium before the Inspissator process. These substances provide the fatty acids and proteins required for the metabolism of Mycobacteria. The coagulation of egg albumin during sterilization forms a solid medium.

FORMULA	g/600ml
Asparagine	3.6
Monopotassium Phosphate	2.4
Magnesium Sulfate	0.24
Magnesium Citrate	0.6
Potato Flour	30.0
Malachite Green	0.4
Glycerol	12ml
Whole egg	1000ml

Appearance: Bluish-green, non-transparent

Final pH 7.0 ± 0.2 at 25 °C.

PRECAUTIONS

LOWENSTEIN – JENSEN MEDIUM is an in-vitro laboratory diagnostic material and should only be handled by qualified people in the laboratory. This material contains peptones and extracts of animal origin. The certificates regarding the origin and health status of the animals do not fully guarantee the absence of transmissible pathogens. For this reason, it is recommended that these materials be treated as potentially infectious, with the usual safety precautions (avoiding ingestion or inhalation). Plates should always be handled with gloves and in Laminar flow Class II, to avoid contamination mainly by saprophytic fungi. If the plate is cracked or the bag has a hole, do not use it. Do not use petri dishes if there are signs of microbial contamination. The thickness of the agar must be 4 - 5 mm and the material without cracks, dryness or other signs of deterioration. After the expiry date the material is unfit for use. In case of contact with the skin, wash immediately with plenty of water and soap. Positive samples must be destroyed according to the hygienic rules prescribed for the management of contaminated samples.

STORAGE CONDITIONS

The tubes must be stored at **2 – 12°C** in their original packaging until use. Freezing, even momentarily, destroys the medium, and excessive heating should also be avoided. The tubes can be used until the expiration date indicated on the label. For transport, stability studies have shown that the tubes can remain at **6 - 25°C** for **10 days** and **25 - 40°C** for **48 hours** without affecting the product's performance.

USAGE

Collection of the sample: The infectious material must be transported to the laboratory without delay and protected from excessive heat and cold.

Handle the specimen carefully with gloves and Laminar flow Class II.

1. Edit the sputum specimen by making fluidization and enriching with 4% NaOH according to the Petrof method.
2. Inoculate Lowenstein - Jensen with a sample after disinfection and neutralization.
3. Incubate the medium in a CO₂ atmosphere at 35 - 37 ° C in a dark chamber. The tubes should be incubated for one week with loose lids to allow the release of CO₂ at the onset of growth. The lids should be tightened after one week to avoid dehydration of the media.
3. Examine the tubes after five to seven days and then weekly for up to eight weeks.
4. Examine the tubes under the light and magnifying glass for the appearance of any colonies Colony development has been observed for the first two days.

INTERPRETATION OF RESULTS

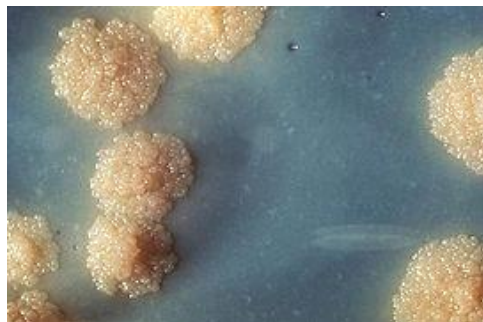
After 5-7 days, Mycobacterium species will form irregular, dry, yellowish colonies. Perform an acid-fast Ziehl-Neelsen stain for initial assessment. Mycobacteria stain bright red. Sometimes, the staining may be non-uniform, appearing as granular structures. Definitive identification requires biochemical tests.

METHOD LIMITATIONS

The tubes must be incubated in an atmosphere of 5-10% CO₂ to ensure proper Mycobacteria growth. For unknown reasons, Mycobacteria do not recover well from CO₂ when using the wax technique. Protect the tubes from all light sources during incubation, as Malachite Green is highly photosensitive. Lowenstein-Jensen medium generally inhibits certain bacterial strains that are sensitive to Malachite Green. The color of Lowenstein-Jensen medium may vary from light green to dark blue green. Do not use tubes that have turned yellow, as this can interfere with the interpretation of Mycobacteria staining. Most contaminant bacteria will turn the medium blue.

GENERAL CHARACTERISTICS OF QUALITY CONTROL

Bacterial	ATCC	Growth
<i>Escherichia coli</i>	25922	Inhibition (partial)
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	6841	Yellow - creamy



Mycobacterium tuberculosis

WASTE DISPOSAL OF WASTE

Materials that show no growth can be considered as non-hazardous waste and disposed of accordingly. Materials that show colony growth must be disposed of according to the guidelines for infectious or potentially infectious waste. The laboratory is responsible for the proper management of infectious waste according to its nature and level of risk and must handle and dispose of it (or assign its management and disposal) in compliance with the applicable regulations.

SPECIFICATIONS

LOWENSTEIN – JENSEN MEDIUM - CE

ITEM	CODE	PACKAGE	KEEPING	SELF LIFE
Tube 8ml	070060	40 pieces	2 – 12 °C	8 months

Produced in Greece by Bioprep in accordance with the requirements of the European Directive 98/79/EK. FEK B2198/2-10-2009. CODE EDMA 14 01 02 10. Bioprep company has been certified according to standards EN ISO 9001:2015 / EAOT EN ISO 13485:2016 DY8d/1348/2004

BIBLIOGRAPHY

Αντιγόνη Αρσένη. Κλινική Μικροβιολογία και Εργαστηριακή Διάγνωση. Τόμος 1. Σελ. 360-400.

Musser, J. M. 1995. Antimicrobial resistance in Mycobacteria: molecular genetic insights. Clinical Microbiology Reviews 8:496-514.

Kleitmann, W. 1995. Resistance and susceptibility testing for Mycobacterium tuberculosis. Clinical Microbiology Newsletter 17:65-69.

Nolte, F. S., and B. Methocock. 1995. Mycobacterium, p. 400-437. In P.R. Murray, E. J. Baron, M. A. Pfaller, F. C. Tenover, and R. H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

Isenberg, H. D. (ed.)1992. Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

IN VITRO MANUFACTURER'S DATA



G. PAPANIKOLAOU & CO

PRODUCTION LABORATORIES OF CULTURE MEDIA

Potamou 5, Industrial Area Keratea, Attica

P.O. Box: 4893, Postal Code: 9001 - Tel: +30 2299066113. Fax: +30 2299066112

E-mail: bioprep1@otenet.gr

www.bioprep.gr