

Especificación

Cultivo y diferenciación de especies de Micobacterias

Presentación

20 Tubos	Encajado	Caducidad	Almacenamiento
Tubo 17x 145 mm con: 9 ± 0.2 ml	1 caja con 20 tubos de vidrio, 17x145 mm , rotulados y con tapón metálico- no pinchable	12 meses	2-25 °C

Composición

Composición (g/l):	
Almidón de patata.....	30,0
Asparagina.....	3,60
Citrato de magnesio.....	0,60
Sulfato de magnesio.....	0,24
Fosfato monopotásico.....	2,40
Verde malaquita.....	0,40
Glicerina.....	12,0 ml
Emulsión de huevo.....	1000,0 ml
Agua destilada	600,0 ml

Descripción/Técnica

Descripción:

Inicialmente, Löwenstein formuló un medio para el cultivo de micobacterias en el que se inhibía parcialmente el crecimiento de otras bacterias con la incorporación de rojo congo y verde de malaquita. La formulación presente, desarrollada por Jensen, difiere de aquella en el contenido de citrato y fosfato; se ha aumentado la concentración de verde de malaquita y se ha suprimido el rojo congo.

El Medio Basal de Lowenstein-Jensen es de una formulación relativamente sencilla que requiere suplementación para soportar el crecimiento de las micobacterias: El glicerol (si es necesario) y el huevo batido, que se añaden antes del proceso de espesamiento y coagulación, proporcionan los ácidos grasos y proteínas que requiere el metabolismo de las micobacterias. La coagulación de la albúmina del huevo durante la esterilización proporciona un medio sólido apto para el inóculo superficial de las muestras.

Técnica:

La muestra deberá ser descontaminada, fluidificada y concentrada en función de su origen. Todas las manipulaciones con micobacterias y muestras con ellas relacionadas deberán realizarse con suficientes garantías de seguridad sanitaria. Se inocula abundantemente esparciendo la muestra por la superficie del medio. Para las micobacterias glicerofóbicas debe usarse el medio sin glicerina. Durante las cuatro primeras semanas los tubos se incubarán a 35°C en posición horizontal. En cuanto el inóculo haya desaparecido junto con la humedad superficial, los tubos se cerrarán firmemente y se podrán incubar en posición normal, aireándolos semanalmente. Para el desarrollo de una morfología colonial típica es necesario una buena oxigenación y la ausencia de líquido en la superficie. Verificar crecimiento a los 10-14 días de incubación y luego a intervalos semanales. La incubación debe prolongarse hasta 8 semanas antes de dar resultados negativos.

Tipo humanus (variedad R)

- Con Glicerol: Crecimiento eugónico: Abundante, elevado, seco y desmenuzable. Generalmente se producen colonias umbilicadas amarillentas
- Sin glicerol: El mismo modelo de colonias pero con crecimiento muy pobre

Tipo bovinus (variedad S)

- Con Glicerol: Crecimiento muy escaso o sin crecimiento en absoluto.
- Sin glicerol: Crecimiento disgónico: Colonias planas, húmedas, brillantes, confluentes (frecuentemente acuminadas) y sin pigmentación.

Tipo gallinaceous y Tipo poikilothermorum

- Con Glicerol y sin glicerol: Crecimiento rápido en forma de "cesped" o tapiz húmedo y relativamente abundante.
- Temperatura óptima 25°C/Temperatura óptima 41-42°C

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico in vitro. No reutilizar. Para uso por parte de personal de laboratorio debidamente formado.

No utilizar el producto si muestra evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación, agrietamiento o cualquier otro signo de deterioro.

Control de Calidad**Control Físico/Químico**

Color : Verde palido

pH: 7,2 ± 0,2 a 25°C

Control de Fertilidad

Preparación de una suspensión a partir de cultivos puros.

Aislamiento por siembra con estría

Metodología analítica acorde con ISO 11133:2014/A1:2018; A2:2020.

Aerobiosis. Incubación en posición inclinada a 35-37 °C hasta un máximo de 21 días

Microorganismo**Desarrollo***Mycobacterium gordonae* ATCC® 14470

Bueno

Mycobacterium kansasii ATCC® 12478

Bueno

Mycobacterium tuberculosis ATCC® 25177

Bueno

Mycobacterium fortuitum ATCC® 6841

Bueno

Mycobacterium smegmatis ATCC® 14468

Bueno

Mycobacterium terrae ATCC® 15755

Bueno

Mycobacterium intracellulare ATCC® 13950

Bueno

Control de Esterilidad

Incubación 7 días a 30-35 °C y 7 días a 20-25 °C: SIN CRECIMIENTO.

Bibliografía

JENSEN, K.A. (1932) Reinzüchtung und Typenbestimmung von Tuberkelbazillenstämmen. Zbl. Bakt. I. Orig. 125:222-239

LOWENSTEIN, E. (1931) Die Züchtung der Tuberkelbazillen aus dem strömenden Blute. Zbl. Bakt. I. Orig. 120:127-129

BALOWS A., W.J. HAUSLER JR., K.L. HERRMANN, H.D. ISENBERG, H. JEAN SHADOMY (1991) Manual of Clinical Microbiology 5th ed ASM Press, Washington DC.

PFYFFER G.E., B.A. BROWN-ELLIOT & R.J. WALLACE Jr. (2003) Mycobacterium: General Characteristics, Isolation, and Staining Procedures in Manual of Clinical Microbiology 8th ed. by Murray, Baron, Jorgensen, Pfaller and Tenover. ASM Press, Washington DC.