

MEIO LOWENSTEIN – JENSEN LOWENSTEIN - JENSEN MEDIUM (7245)

Uso Previsto

Meio Lowenstein - Jensen é utilizado com ovo fresco e glicerol para o isolamento e diferenciação de *Mycobacterium* spp.

Sumário e Explicação do Produto

Infecções micobacterianas, particularmente a tuberculose, são problemas de saúde a nível mundial. Em torno de três milhões de pessoas ao redor do mundo morrem de tuberculose a cada ano.¹ Infecções micobacterianas que não sejam tuberculosas também têm aumentado desde 1985.² Ao menos 25 espécies de micobactérias estão associadas com doenças humanas, produzem um desenvolvimento lento e granulomas destrutivos que podem sofrer necroses com ulceração ou cavitação.²

A utilização de um meio à base de ovo para o isolamento primário de micobactérias apresenta duas vantagens significativas. Meios à base de ovo suportam uma ampla variedade de micobactérias e também podem ser utilizados para o teste de niacina. Liquefação do Meio Lowenstein-Jensen Medium pode ocorrer se houver contaminação por organismos proteolíticos.

O Meio Lowenstein-Jensen é uma modificação do Meio Lowenstein³, modificado por Jensen.⁴ Jensen modificou o meio através da alternância do conteúdo de citrato e fosfato, eliminando o corante vermelho congo e aumentando a concentração de verde malaquita.⁵ O Meio Lowenstein-Jensen é comumente utilizado em laboratórios clínicos para o isolamento de organismos resistentes a descoloração por ácido provenientes de fontes estéreis e não estéreis.⁶

Princípios do Procedimento

L-Asparagina e Farinha de Batata são as fontes de nitrogênio e vitaminas no Meio Lowenstein-Jensen. Fosfato Monopotássico e Sulfato de Magnésio aumentam o crescimento do organismo e agem como tamponantes. O Glicerol e a Suspensão de Ovo fornecem ácidos graxos e proteína para o metabolismo das micobactérias. A coagulação da albumina do ovo durante o processo de esterilização fornece um meio sólido para a inoculação. O Citrato de Sódio e o Verde Malaquita são agentes seletivos que previnem o crescimento da maioria dos organismos contaminantes e permitem o crescimento inicial de micobactérias.

Fórmula / Litro

| | |
|-----------------------------|--------|
| L-Asparagina | 3,6 g |
| Fosfato Monopotássico | 2,5 g |
| Sulfato de Magnésio..... | 0,24 g |
| Citrato de Sódio..... | 0,6 g |
| Verde Malaquita | 0,4 g |
| Farinha de Batata | 30 g |

A fórmula pode ser ajustada e/ou suplementada conforme necessário para atender as especificações de desempenho.

Suplementos

| |
|---------------------------|
| Glicerol, 12 mL |
| Suspensão de ovo, 1000 mL |

Precauções

1. Somente para o uso em laboratório.
2. IRRITANTE. Irritante para os olhos, sistema respiratório e pele.

Modo de Preparo

1. Dissolva 37,3 g do meio em 600 mL de água purificada contendo 12 mL de glicerol.
2. Aqueça, agitando frequentemente para dissolver completamente o meio.
3. Autoclave a 121°C por 15 minutos.
4. Prepare assepticamente 1000 mL de suspensão de ovo uniforme e fresca. Evite bolhas de ar na suspensão durante a coleta e mistura.
5. Assepticamente misture 1000 mL da suspensão de ovo com 600 mL do meio estéril Lowenstein-Jensen resfriado a 50–60°C, evitando bolhas de ar.
6. Dispense o meio finalizado em tubos estéreis com tampa de rosca. Coloque os tubos em posição inclinada e aqueça a 85°C por 45 minutos.

Especificações de Controle de Qualidade

Aparência Desidratado: O pó é homogêneo, fluxo livre e verde azulado claro a médio.

Aparência Preparado: O meio preparado com a suspensão de ovo é azul esverdeado claro a médio e opaco.

Resposta Esperada de Cultivo: Resposta de cultivo no Meio Lowenstein-Jensen a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ sob 7–10% de CO_2 e examinado para crescimento após 21 dias de incubação.

| Micro-organismo | Inóculo Aproximado (UFC) | Resultados Esperados |
|---|---------------------------------|-----------------------------|
| <i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922 | 10^3 | Inibição parcial a completa |
| <i>Mycobacterium fortuitum</i> Group IV ATCC® 6841 | Pesado | Bom a excelente |
| <i>Mycobacterium intracellulare</i> Group III ATCC® 13950 | Pesado | Bom a excelente |
| <i>Mycobacterium kansasii</i> Group I ATCC® 12478 | Pesado | Bom a excelente |
| <i>Mycobacterium scrofulaceum</i> Group II ATCC® 19981 | Pesado | Bom a excelente |
| <i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Ra ATCC® 25177 | Pesado | Bom a excelente |

Os organismos listados são os mínimos que devem ser avaliados para o teste de controle de qualidade.

Procedimento do Teste

Refira-se aos procedimentos específicos para uma discussão completa sobre o isolamento e identificação de *Mycobacterium* spp.

Resultados

Observe as colônias que possam ou não ser pigmentadas. A morfologia da colônia depende da espécie isolada.

Armazenamento

Armazene o frasco contendo o meio desidratado devidamente fechado entre $2\text{--}30^\circ\text{C}$. Uma vez aberto e fechado novamente, coloque o frasco em um ambiente de baixa umidade e na mesma temperatura de armazenamento. Proteja contra a umidade e luz mantendo o frasco firmemente fechado.

Validade

Refira-se à data de validade no frasco. O meio desidratado deve ser descartado se não fluir livremente ou se houver mudança na coloração original. A validade se aplica ao meio em sua embalagem intacta quando armazenado como indicado.

Limitações do Procedimento

1. Devido à variação nutricional, algumas cepas podem apresentar um crescimento fraco ou ausência de crescimento neste meio. Mais testes são necessários para a confirmação de *Mycobacterium* spp.
2. Culturas com resultados negativos não descartam uma infecção micobacteriana.

Embalagem

| | | | |
|---------------------------------|------------------|--------------|--------------|
| Meio Lowenstein - Jensen | N° Código | 7245A | 500 g |
| | | 7245B | 2 kg |
| | | 7245C | 10 kg |

Referências

1. **Musser, J. M.** 1995. Antimicrobial resistance in Mycobacteria: molecular genetic insights. *Clinical Microbiology Reviews*. **8**:496-514.
2. **Murray, P. R., E. J. Baron, M. A. Pfaller, F. C. Tenover, and R. H. Tenover (eds.)**. 1995. *Manual of clinical microbiology*, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
3. **Lowenstein, E.** 1931. Die Zachtung der Tuberkelbazillen aus dem stramenden Blute. *Zentralb. Bakteriol Parasitenkd. infektionskr. hyg. Abt. I orig.*, **120**:127.
4. **Jensen, K. A.** 1932. Rinzuchtung und Typenbestimmung von Tuberkelbazillentamen. *Zentralb. Bakteriol Parasitenkd. infektionskr. hyg. Agt. I Orig.*, **125**:222.
5. **MacFaddin, J. F.** 1985. *Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria*, vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
6. **Isenberg, H. D. (ed.)**. 1992. *Clinical microbiology procedures handbook*, vol. 1 American Society for Microbiology, Washington, D.C.

Informação Técnica

Contate a Neogen do Brasil para Serviços Técnicos ou questões envolvendo a preparação ou desempenho do meio de cultura desidratado no telefone 19.3935-3727.

Contate a Acumedia Manufacturers, Inc. para Serviços Técnicos ou questões envolvendo a preparação ou desempenho do meio de cultura desidratado no telefone +1 (517)372-9200 ou fax +1 (517)372-2006.