

## LOWENSTEIN JENSEN MEDIUM BASE

### LOWENSTEIN JENSEN MEDIUM

**IMPIEGO PREVISTO**

Terreno in polvere e pronto all'uso in provetta per l'isolamento e la coltivazione dei micobatteri

**FORMULE TIPICHE (g/l)****Lowenstein Jensen Medium Base (g/l)**

Magnesio solfato	0.24
Magnesio citrato	0.60
Potassio fosfato monobasico	2.50
L-asparagina	3.60
Farina di patate	30.00
Verde malachite	0.40

**Lowenstein Jensen Medium (provette pronte)**

Lowenstein Jensen Medium Base	600 ml
Glicerolo	12 ml
Emulsione d'uovo	1000 ml

**PREPARAZIONE DEL TERRENO IN POLVERE**

Sospendere 37.4 g di polvere in 600 ml di acqua distillata fredda, aggiungere 12 ml di glicerolo e scaldare per sciogliere il terreno. Autoclavare a 121 °C per 15 minuti, raffreddare a circa 50°C e aggiungere 1000 ml di emulsione d'uovo raccolta sterilmente. Distribuire in provette con tappo a vite e scaldare a 75°C per 45 minuti in posizione obliqua, fino a che il terreno si sia solidificato per coagulazione dell'uovo.

**DESCRIZIONE**

Lowenstein Jensen Medium Base è un terreno utilizzato per la coltivazione dei micobatteri, in particolare di *Mycobacterium tuberculosis*, sia da campioni di origine clinica, sia da coltura pura. Il terreno originariamente descritto da Lowenstein conteneva il rosso congo ed il verde malachite per limitare la crescita dei batteri indesiderati. Jensen modificò la formula originale sopprimendo il rosso congo. Durante il processo di cottura la albumina dell'uovo coagula fornendo così una superficie solida per la crescita batterica. L'asparagina e le uova sono fonte di azoto, acidi grassi e proteina; il glicerolo è una fonte di carbonio e favorisce la crescita dei micobatteri di origine umana ma non quelli di origine bovina; il verde malachite agisce come inibente della flora saprofitica.

Per la coltivazione di alcuni ceppi di *Mycobacterium bovis* sensibili al glicerolo si deve omettere nella preparazione del terreno il glicerolo. Oltre che per l'isolamento dei micobatteri, Lowenstein Jensen Medium può essere usato per l'isolamento di *Nocardia* dallo sputo, da lavaggi gastrici o da altri materiali. In combinazione con il terreno di Lowenstein-Jensen è possibile impiegare provette con il substrato reso selettivo dall'aggiunta di antibiotici per limitare lo sviluppo della flora saprofitica. A tal proposito è consigliabile l'impiego del cosiddetto terreno di Lowenstein Jensen-Gruft, preparato aggiungendo al terreno completo penicillina G 50 U/ml, acido nalidissico 35 mg/ml, acido ribonucleico 80 mg/ml, sterilizzati per filtrazione. L'acido ribonucleico è aggiunto per incrementare la crescita dei micobatteri.

**IMPIEGO**

Le provette devono essere inoculate in doppio, strisciando il materiale da esaminare, opportunamente trattato (decontaminazione e neutralizzazione), sulla superficie del terreno. Incubare a 37°C in atmosfera con CO<sub>2</sub>. Durante la prima settimana i tappi dovrebbero essere lasciati allentanti per favorire la circolazione della anidride carbonica e dare l'avvio alla crescita. Dopo una settimana richiudere i tappi per evitare la disidratazione del terreno. Esaminare dopo 5-7 giorni e poi ogni settimana per 8 settimane. L'esame dovrebbe essere eseguito visivamente e con una lente d'ingrandimento. Riportare la morfologia delle colonie e la pigmentazione

*Mycobacterium tuberculosis* coltiva sul terreno con colonie larghe, secche, giallastre. *Mycobacterium bovis* cresce modestamente con colonie piccole prive di colore. Fare riferimento ai testi specialistici per l'interpretazione della crescita ottenuta sul terreno IUT Medium e per l'identificazione delle colonie.

**LIMITI**

Incubare in un termostato a CO<sub>2</sub>, non utilizzare il metodo della candela. Porre attenzione a proteggere il terreno dalla luce poiché il verde malachite è fotosensibile. Il colore del terreno può variare da verde chiaro a verde intenso. Scartare le provette che appaiono gialle poiché vi potrebbe essere interferenza nell'interpretazione del colore giallo delle colonie. La maggior parte dei micobatteri fa virare il colore del terreno al blu.

**CONSERVAZIONE**

**Terreno in polvere:** conservare a 10-30°C al riparo della luce, in luogo asciutto. In queste condizioni il terreno è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento della polvere ecc.). Conservare le provette preparate in laboratorio per un massimo di 3 settimane a 2-8°C, al buio.

**Provette pronte all'uso:** conservare a 2-8°C al buio, fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento delle provette.

**PRECAUZIONI E SICUREZZA DEGLI OPERATORI**

I preparati qui descritti non sono classificati come pericolosi ai sensi della legislazione vigente né contengono sostanze pericolose in concentrazioni ≥1%. Come per tutti i terreni in polvere anche la manipolazione di Lowenstein Jensen Medium Base deve essere effettuata con una adeguata protezione delle vie respiratorie.

I prodotti qui descritti sono solo per uso diagnostico *in vitro* e devono essere usati in laboratorio, da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni. Sterilizzare le provette dopo il loro uso e prima dell'eliminazione come rifiuto.

**BIBLIOGRAFIA**

- APHA (1963) - Diagnostic Procedures and Reagents. 4th edition.
- Sommers, M.H. and J.K. Mc Clatcky (1983) - Laboratory Diagnosis of the Mycobacteriaceae. Cumitech 16, ASM, Washington, D.C.

**CONFEZIONI**

Terreno in polvere:

**4016352 Lowenstein Jensen Medium Base,** 500 g (8 l)

Terreno pronto all'uso:

**521635 Lowenstein Jensen Medium,** 10 provette 18x 145 con il terreno a becco di clarino

