



BD Legionella Agar with Vancomycin and Colistin

VERWENDUNGSZWECK

BD Legionella Agar with Vancomycin and Colistin ist ein selektives Medium zur Isolierung von *Legionella*-Spezies aus klinischen Proben.

GRUNDLAGEN UND ERLÄUTERUNG DES VERFAHRENS

Mikrobiologische Methode.

Seit *Legionella pneumophila* erstmals als Auslöser der Legionärskrankheit beschrieben wurde, wurden noch zahlreiche andere Spezies beschrieben, von welchen einige ebenfalls mit menschlichen Erkrankungen in Verbindung gebracht werden.^{1,2} Obwohl *Legionella* nicht extrem anspruchsvoll ist, benötigt es Cystein und Eisenionen, um Wachstum zu zeigen.²⁻⁴ Da der Organismus für Sauerstoffradikale ziemlich empfindlich ist, sind Medien mit Aktivkohle in Bezug auf das Wachstum von *Legionella* Schokoladenagar überlegen. Das von Edelstein beschriebene Medium, BCYE α (Buffered Charcoal Yeast Extract α -Ketoglutarate)-Agar, ist das am häufigsten als Basis für *Legionella*-Medien verwendete Medium.⁴ Es wurden mehrere Supplemente zur Hemmung der begleitenden Flora beschrieben.^{2,5,6}

In **BD Legionella Agar with Vancomycin and Colistin** liefert Hefeextrakt die Nährstoffe, während L-Cystin, Alpha-Ketoglutarat und Eisen (III)-Pyrophosphat den spezifischen Nährstoffanforderungen von *Legionella* Rechnung trägt. ACES [N-(2-acetamido)-2-Ethylamin-Sulfonsäure] ist ein Puffer. Vancomycin hemmt grampositive Organismen und Colistin hemmt sensitive gramnegative Bakterien, wie z.B. *Enterobacteriaceae*, mit Ausnahme von *Proteus*.

REAGENZIEN

BD Legionella Agar with Vancomycin and Colistin

Zusammensetzung* pro 1 Liter destilliertem Wasser

Hefeextrakt	10,0 g
Eisen (III)-Pyrophosphat	0,25
ACES Puffer	10,0
Aktivkohle	2,0
Alpha-Ketoglutarat	1,0
Agar	15,0
L-Cystein-HCl	0,4
Vancomycin	0,002 g
Colistin	0,015 g

pH 6,9 $\pm$ 0,2

*Nach Bedarf abgestimmt und/oder ergänzt auf die geforderten Testkriterien.

VORSICHTSMASSNAHMEN

IVD . Nur für den professionellen Gebrauch. ②

Agarplatten bei Anzeichen von mikrobieller Kontamination, Verfärbung, Austrocknung, Rissen oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.

Hinweise zur aseptischen Arbeitsweise, Biogefährdung und Entsorgung des Produkts sind der **ALLGEMEINEN GEBRAUCHSANLEITUNG** zu entnehmen.

AUFBEWAHRUNG UND HALTBARKEIT

Nach Erhalt Platten bis unmittelbar vor dem Gebrauch im Dunkeln bei 2 – 8 °C in der Originalverpackung lagern. Einfrieren und Überhitzen vermeiden. Die Platten können bis zum Verfallsdatum (s. Kennzeichnung auf der Verpackung) inokuliert und entsprechend den empfohlenen Inkubationszeiten inkubiert werden.

Platten aus bereits geöffneten Stapeln mit jeweils 10 Platten können bei Lagerung in einem sauberen Bereich bei 2 – 8 °C bis zu einer Woche verwendet werden.

QUALITÄTSSICHERUNG DURCH DEN ANWENDER

Repräsentative Proben mit den nachfolgend aufgeführten Stämmen inokulieren (detaillierte Informationen siehe **ALLGEMEINE GEBRAUCHSANLEITUNG**). Platten 3 – 4 Tage bei 35 – 37 °C in einer feuchten Kammer aerob inkubieren.

Stämme	Wachstum
<i>Legionella pneumophila</i> ATCC 33152	Gutes bis ausgezeichnetes Wachstum; bläulich-graue Kolonien
<i>Legionella bozemanii</i> ATCC 33217	Gutes bis ausgezeichnetes Wachstum; bläulich-graue Kolonien
<i>Legionella micdadei</i> ATCC 33218	Gutes bis ausgezeichnetes Wachstum; bläulich-graue Kolonien
<i>Legionella anisa</i> DSM 17627	Gutes bis ausgezeichnetes Wachstum; bläulich-graue Kolonien
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum
Nicht inokuliert	Glänzend schwarz

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

BD Legionella Agar with Vancomycin and Colistin (90 mm **Stacker-Platten**).

Mikrobiologisch kontrolliert.

Nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien und Laborgeräte nach Bedarf.

Probenarten

Dies ist ein teilweise selektives Medium für die Isolierung von *Legionella* aus Proben der unteren Atemwege, einschließlich Sputum (siehe auch **LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN**). Weitere Einzelheiten über Proben und Probenentnahme sind den Literaturhinweisen zu entnehmen.^{2,6} Das Medium kann auch zum Nachweis von *Legionella* in Wasser und Wasserversorgungssystemen verwendet werden. Bevor Abstriche von Wasserhähnen oder Duschen gemacht werden, sollte der Belüfter oder Duschkopf entfernt werden. Proben oder Abstriche können in einer kleinen Menge sterilem Leitungswasser transportiert werden, um ein Austrocknen zu verhindern.^{2,6}

Testverfahren

Alle klinischen Proben mit einer großen Menge begleitender Flora können zuerst erhitzt werden (Wasserbad: 30 min, 50 °C) oder einer Säurebehandlung unterzogen werden (Probe im Verhältnis 1:10 mit 0,2 M KCl/HCl-Puffer pH 2,2 verdünnen, 5 – 10 min bei Raumtemperatur inkubieren und vor der Inokulierung auf pH 7,0 neutralisieren), um den Nachweis zu vereinfachen. Klinische Proben können ebenfalls vor dem Ausstreichen auf das Medium durch Aufschütteln in Trypticase-Soja-Bouillon oder anderen geeigneten Flüssigkeiten homogenisiert werden.

Wasserproben müssen vor dem Aufbringen auf die Agarplatte durch Zentrifugieren und Filtrieren konzentriert werden. Einzelheiten zu Vorbehandlung und Probenentnahmeverfahren sind den Literaturhinweisen zu entnehmen.²

Proben mit Hilfe einer anerkannten Isolierungstechnik auf dem Medium ausstreichen.

Austrocknung der Proben während der Verarbeitung und Kultivierung vermeiden.

Platten 3 – 4 Tage, gegebenenfalls bis zu 2 Wochen, in Umgebungsluft bei 35 – 37 °C in einer feuchten Kammer inkubieren.

Ergebnisse

Legionella-Spezies bilden kleine bis große, glänzende, häufig mukoide, farblose, bläuliche oder rötliche Kolonien auf Medien mit BCYE-Basis. Einige *Legionella*-Spezies zeigen Autofluoreszenz, nicht jedoch *L. pneumophila*. Diagnose mit geeigneten Färbungsverfahren und serologischen Tests bestätigen.²

LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

BD Legionella Agar with Vancomycin and Colistin ist eine der zur Isolierung von *Legionella* aus Proben der unteren Atemwege und Wasser verwendeten Rezepturen.^{2,5}

Dieses Medium ist nur teilweise selektiv. Proben oder Wasser mit kontaminierender Flora müssen vorbehandelt werden, um eine Überwucherung durch Pilze oder Bakterien zu verringern.

Zur Identifizierung des Genus und der Spezies sind weitere bestätigende Tests notwendig. Antigen- und Antikörpertests zur Bestätigung einer Infektion durch *Legionella* wurden beschrieben.^{2,6}

LITERATUR:

1. McDade, J.E., C.C. Shepard, D.W. Fraser, T.R. Tsai, M.A. Redus, W.R. Dowdle, and the Laboratory Investigation Team. 1977. Legionnaires' disease: isolation of a bacterium and demonstration of its role in other respiratory disease. N. Engl. J. Med. 297:1197-1203.
2. Winn, W.C. 1995. *Legionella*, p. 533-544. 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.
3. Feeley, J.C., G.W. Gorman, R.E. Weaver, D.C. Mackel, and H.W. Smith. 1978. Primary isolation media for Legionnaires' disease bacterium. J. Clin. Microbiol. 8:320-325.
4. Edelstein, P.H. 1981. Improved semiselective medium for isolation of *Legionella pneumophila* from potable water. J. Clin. Microbiol. 14: 298-303.
5. MacFaddin, J. D. 1985. Media for isolation-cultivation-identification- maintenance of medical bacteria, vol. 1, p. 275-284. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
6. Stout, J.E., J.D. Rihs, and V.L. Yu. 2003. *Legionella*. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

VERPACKUNG/LIEFERBARE PRODUKTE

BD Legionella Agar with Vancomycin and Colistin

Best.-Nr. 254414 Gebrauchsfertige Plattenmedien, 20 Platten

Best.-Nr. 254543 Gebrauchsfertige Plattenmedien, 120 Platten

WEITERE INFORMATIONEN

Weitere Informationen erhalten Sie bei Ihrer örtlichen BD-Vertretung.



Becton Dickinson GmbH

Tullastrasse 8 – 12

D-69126 Heidelberg/Germany

Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16

Reception_Germany@europe.bd.com

<http://www.bd.com>

<http://www.bd.com/europe/regulatory/>

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

BD, BD Logo and all other trademarks are the property of Becton, Dickinson and Company. © 2013 BD