



BD Legionella Agar with Vancomycin and Colistin

PRZEZNACZENIE

BD Legionella Agar with Vancomycin and Colistin jest podłożem selektywnym do izolowania gatunków bakterii z rodzaju *Legionella* z próbek klinicznych.

ZASADY I OBJAŚNIENIE PROCEDURY

Metoda mikrobiologiczna.

Od czasu pierwszej publikacji z opisem *Legionella pneumophila* jako czynnika przyczynowego choroby legionistów opisano dużą liczbę podobnych gatunków bakterii, przy czym niektóre z nich są również związane z chorobami występującymi u ludzi.^{1,2} Mimo że bakterie z rodzaju *Legionella* nie należą do drobnoustrojów o skrajnie dużych wymaganiach odżywczych, potrzebują do wzrostu cysteiny i jonów żelaza.²⁻⁴ Ponieważ opisywane mikroorganizmy są dość wrażliwe na rodniki tlenowe, podłoża zawierające węgiel drzewny lepiej podtrzymują wzrost bakterii *Legionella* niż podłoże Chocolate Agar. Jako podstawowy skład pożywek do hodowli bakterii *Legionella* najczęściej stosuje się podłoże opisane przez Edelsteina — BCYE α (Buffered Charcoal Yeast Extract α -Ketoglutarate) Agar.⁴ Opisano szereg składników uzupełniających, wprowadzanych w celu zahamowania wzrostu flory towarzyszącej.^{2,5,6} W składzie podłoża **BD Legionella Agar with Vancomycin and Colistin** wyciąg z drożdży dostarcza składników odżywczych, a L-cysteina, alfa-ketoglutaran oraz pirofosforan żelaza spełniają specyficzne wymagania odżywcze bakterii z rodzaju *Legionella*. ACES (kwas N-[2-acetamido]-2-aminoetanosulfonowy) pełni funkcję buforu. Wankomycyna hamuje wzrost drobnoustrojów Gram-dodatnich, a kolistyna — wzrost wrażliwych na jej działanie bakterii Gram-ujemnych, takich jak *Enterobacteriaceae*, z wyjątkiem rodzaju *Proteus*.

ODCZYNNIKI

BD Legionella Agar with Vancomycin and Colistin

Skład* w przeliczeniu na litr wody oczyszczonej

Wyciąg z drożdży	10,0 g
Pirofosforan żelaza	0,25
ACES Buffer	10,0
Węgiel drzewny (aktywowany)	2,0
Alfa-ketoglutaran	1,0
Agar	15,0
Chlorowodorek L-cysteiny	0,4
Wankomycyna	0,002 g
Kolistyna	0,015 g

pH 6,9 +/- 0,2

*Skorygowany lub uzupełniony zgodnie z wymaganiami kryteriów działania.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

IVD . Wyłącznie do zastosowań profesjonalnych. ⓧ

Nie należy używać płytek, jeżeli są na nich widoczne oznaki skażenia mikrobiologicznego, odbarwienia, wyschnięcia, pęknięcia lub inne oznaki pogorszenia jakości.

Procedury aseptycznej techniki pracy z produktem, zagrożenia biologiczne oraz usuwanie użytego produktu opisano w dokumencie **OGÓLNA INSTRUKCJA DOTYCZĄCA STOSOWANIA**.

PRZECHOWYWANIE I DOPUSZCZALNY OKRES PRZECHOWYWANIA

Po otrzymaniu, płytki należy przechowywać w ciemnym miejscu w temperaturze od 2 do 8° C, w ich oryginalnym opakowaniu izolującym do chwili użycia. Unikać zamrażania i przegrzewania. Posiewu na płytki można dokonywać aż do daty ważności (patrz etykieta na opakowaniu) i inkubować w zalecanych czasach inkubacji.

Płytek z otwartych stosów zawierających po 10 płytek można używać przez okres jednego tygodnia, przechowując w czystym miejscu w temperaturze od 2 do 8° C.

KONTROLA JAKOŚCI PRZEZ UŻYTKOWNIKA

Reprezentatywne próbki podłoża zaszczipia się hodowlami wymienionych niżej szczepów (szczegółowe informacje — patrz dokument **OGÓLNA INSTRUKCJA DOTYCZĄCA STOSOWANIA**). Inkubować przez 3 lub 4 dni w warunkach tlenowych, w temperaturze od 35 do 37°C, w nawilżanej komorze.

Szczepy	Wzrost
<i>Legionella pneumophila</i> ATCC 33152	Wzrost dobry lub bardzo dobry; kolonie niebieskawoszare
<i>Legionella bozemanii</i> ATCC 33217	Wzrost dobry lub bardzo dobry; kolonie niebieskawoszare
<i>Legionella micdadei</i> ATCC 33218	Wzrost dobry lub bardzo dobry; kolonie niebieskawoszare
<i>Legionella anisa</i> DSM 17627	Growth satisfactory to excellent; bluish-gray colonies
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Częściowe lub całkowite zahamowanie wzrostu
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Częściowe lub całkowite zahamowanie wzrostu
Bez posiewu	Połyśkująca czerń

PROCEDURA

Dostarczane materiały

BD Legionella Agar with Vancomycin and Colistin (płytki **Stacker** o średnicy 90 mm). Sprawdzane pod względem obecności drobnoustrojów.

Materiały niedostarczane

Pomocnicze pożywki hodowlane, odczynniki i wyposażenie laboratoryjne zgodnie z wymaganiami.

Typy próbek

Omawiana pożywka jest podłożem częściowo selektywnym, służącym do izolowania bakterii z rodzaju *Legionella* z próbek pochodzących z dolnych odcinków dróg oddechowych, w tym z płwociny (patrz także **CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCIOWA I OGRANICZENIA PROCEDURE**). Dalsze szczegółowe informacje na temat próbek i ich pobierania znajdują się w odpowiednich pozycjach piśmiennictwa.^{2,6} Podłoża można także używać do wykrywania bakterii z rodzaju *Legionella* w wodzie i systemach zaopatrywania w wodę. Wymazy z kranów i pryszniców należy pobierać po zdjęciu urządzenia do napowietrzania lub sitka prysznicowego. Próbkę lub wymazy można transportować w niewielkiej ilości jałowej wody wodociągowej, aby nie dopuścić do ich wysychania.^{2,6}

Procedura testowa

Wszystkie próbki pochodzenia klinicznego o wysokiej zawartości flory towarzyszącej można najpierw potraktować wysoką temperaturą (łaźnia wodna o temperaturze 50°C: 30 min) lub środowiskiem kwaśnym (rozcieńczyć próbkę w stosunku 1/10 buforem z 0,2 M KCl/HCl o pH 2,2; inkubować od 5 do 15 min w temperaturze pokojowej, następnie zobojętnić do pH 7,0 przed wykonaniem posiewu) w celu zwiększenia wzrostu badanych drobnoustrojów. Próbkę pochodzenia klinicznego można także poddać homogenizacji poprzez wytrząsanie z użyciem podłoża Trypticase Soy Broth lub innych odpowiednich płynów, a następnie posiać pasmowo na omawianej pożywce.

Próbki wody przed wykonaniem posiewu na płycie trzeba najpierw zagęścić poprzez odwirowanie i przefiltrowanie. Szczegółowe informacje na temat procedur przygotowania wstępnego oraz pobierania próbek znajdują się w piśmiennictwie.² Posiać pasmowo próbkę na podłożu, stosując przyjętą technikę izolacji. W trakcie postępowania z próbką oraz hodowli nie wolno dopuszczać do jej wysychania. Inkubować przez 3 lub 4 dni, w ostateczności do 2 tygodni, w powietrzu z otoczenia w nawilżanej komorze, w temperaturze od 35 do 37°C.

Wyniki

Gatunki bakterii z rodzaju *Legionella* w hodowli na podłożach zawierających pożywkę BCYE mają wygląd kolonii od małych do dużych, błyszczących, często śluzowych, bezbarwnych, niebieskawych lub czerwonych. Kilka gatunków z rodzaju *Legionella* wykazuje samoistną fluorescencję, lecz nie *L. pneumophila*. Rozpoznanie potwierdzić za pomocą odpowiednich metod barwienia i testów serologicznych.²

CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCIOWA I OGRANICZENIA PROCEDURY

Podłoże **BD Legionella Agar with Vancomycin and Colistin** to jedna z pożywek używanych do izolowania bakterii z rodzaju *Legionella* z próbek z dolnych odcinków dróg oddechowych oraz z wody.^{2,5}

Podłoże jest tylko częściowo selektywne. Próbki lub wodę, zawierające florę zanieczyszczającą, należy poddać wstępnemu przygotowaniu w celu zmniejszenia nadmiernego rozrostu grzybów lub bakterii.

Identyfikacja rodzaju i gatunków wymaga wykonania testów potwierdzających.

W piśmiennictwie znajdują się opisy testów z użyciem antygenów i przeciwciał, stosowanych w celu potwierdzenia zakażenia bakteriami z rodzaju *Legionella*.^{2,6}

PIŚMIENNICTWO

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.

PAKOWANIE / DOSTĘPNOŚĆ

BD Legionella Agar with Vancomycin and Colistin

Nr kat. 254414

Gotowe podłoża na płytkach hodowlanych, po 20 sztuk

Nr kat. 254543

Gotowe podłoża na płytkach hodowlanych, po 120 sztuk

DODATKOWE INFORMACJE

W celu uzyskania dodatkowych informacji należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem firmy BD.



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