



BD Legionella Agar with Vancomycin and Colistin

USO PREVISTO

BD Legionella Agar with Vancomycin and Colistin è un terreno selettivo per l'isolamento di *Legionella* spp. da campioni clinici.

PRINCIPI E SPIEGAZIONE DELLA PROCEDURA

Metodo microbiologico.

Dopo la prima descrizione della *Legionella pneumophila* quale agente eziologico della malattia dei legionari, sono state descritte numerose altre specie, alcune associate anche a malattie umane.^{1,2} La *Legionella* non è particolarmente esigente ma necessita di cisteina e ioni ferrici per svilupparsi.²⁻⁴ Il microrganismo è alquanto sensibile ai radicali dell'ossigeno, per cui cresce più facilmente su terreni contenenti carbone piuttosto che su agar cioccolato. La base usata più spesso nei terreni per *Legionella* è l'agar BCYE (carbone tamponato estratto di lievito alfa-chetoglutarato), descritto da Edelstein.⁴ Sono stati allestiti diversi supplementi per inibire la microflora associata.^{2,5,6}

Nel **BD Legionella Agar with Vancomycin and Colistin**, l'estratto di lievito fornisce i nutrienti, mentre L-cisteina, alfa-chetoglutarato e pirofosfato di ferro rispondono agli specifici requisiti nutritivi della *Legionella*. ACES [acido N-(2-acetamido)-2-aminoetanosolfonico] è un tampone. La vancomicina inibisce i microrganismi Gram-positivi, mentre la colistina inibisce i batteri Gram-negativi sensibili, come le *Enterobacteriaceae*, ad eccezione del *Proteus*.

REAGENTI

BD Legionella Agar with Vancomycin and Colistin

Formula* per litro di acqua purificata

Estratto di lievito	10,0 g
Pirofosfato di ferro	0,25
Tampone ACES	10,0
Carbone attivo	2,0
Alfa-chetoglutarato	1,0
Agar	15,0
L-cisteina HCl	0,4
Vancomicina	0,002 g
Colistina	0,015 g

pH 6,9 ± 0,2

*Compensata e/o corretta per soddisfare i criteri di rendimento.

PRECAUZIONI

IVD . Solo per uso professionale. ⓧ

Non usare le piastre se presentano tracce di contaminazione microbica, alterazioni di colore, essiccamento, incrinature o altri segni di deterioramento.

Per maneggiare i prodotti in condizioni asettiche, riconoscere i rischi biologici e smaltire i prodotti usati, consultare le **ISTRUZIONI GENERALI PER L'USO**.

CONSERVAZIONE E VITA UTILE

Alla consegna, conservare le piastre al buio a 2 – 8 °C nella confezione originaria fino a immediatamente prima dell'uso. Evitare congelamento e surriscaldamento. Le piastre possono essere inoculate sino alla data di scadenza (v. l'etichetta sulla confezione) e incubate per i tempi di incubazione raccomandati.

Le piastre prelevate dalle confezioni da 10 già aperte possono essere usate per una settimana se conservate in luogo pulito a 2 – 8 °C.

CONTROLLO DI QUALITÀ A CURA DELL'UTENTE

Inoculare i campioni rappresentativi con i seguenti ceppi (per informazioni più dettagliate, v. **ISTRUZIONI GENERALI PER L'USO**). Incubare aerobicamente in camera di umidificazione a 35 – 37 °C per 3 – 4 giorni.

Ceppi	Risultati della crescita
<i>Legionella pneumophila</i> ATCC 33152	Crescita da buona a eccellente, colonie grigio-bluastr
<i>Legionella bozemanii</i> ATCC 33217	Crescita da buona a eccellente, colonie grigio-bluastr
<i>Legionella micdadei</i> ATCC 33218	Crescita da buona a eccellente, colonie grigio-bluastr
<i>Legionella anisa</i> DSM 17627	Growth satisfactory to excellent; bluish-gray colonies
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inibizione da parziale a completa
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Inibizione da parziale a completa
Non inoculate	Nero brillante

PROCEDURA

Materiali forniti

BD Legionella Agar with Vancomycin and Colistin (piastre impilate **Stacker** da 90 mm). Microbiologicamente controllate.

Materiali non forniti

Terreni di coltura accessori, reagenti e apparecchiature di laboratorio necessarie.

Tipi di campioni

Terreno parzialmente selettivo per l'isolamento di *Legionella* da campioni delle vie respiratorie inferiori, espettorato incluso (v. anche **PERFORMANCE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA**). Per ulteriori informazioni su campioni e tecniche di prelievo, consultare la bibliografia.^{2,6} Il terreno può essere usato anche per l'isolamento di *Legionella* dalle acque e dai sistemi di erogazione idrica. Passare il tampone su rubinetti e docce dopo la rimozione dell'aeratore o della cipolla della doccia. Per evitare l'essiccamento, campioni e tamponi possono essere trasportati in un piccolo volume di acqua sterile.^{2,6}

Procedura del test

I campioni clinici con flora associata particolarmente elevata possono essere pretrattati con calore (bagnomaria per 30 min a 50 °C) o acido (campioni diluiti 1/10 con 0,2 M di tampone KCl/HCl a pH 2,2, lasciati in incubazione per 5 – 15 min a temperatura ambiente e neutralizzati a pH 7,0 prima dell'inoculazione) per facilitarne l'isolamento. I campioni clinici possono essere omogeneizzati mediante agitazione in brodo di soia Trypticase o altro liquido adatto e successivamente strisciati su terreno di coltura.

Prima di essere collocati su piastra, i campioni di acque devono essere concentrati mediante centrifugazione e filtrazione. Per informazioni dettagliate sulle procedure di pretrattamento e prelievo, consultare la bibliografia.²

Utilizzare una tecnica di isolamento approvata per strisciare il campione sul terreno. Evitare di esporre ad essiccamento i campioni durante il trattamento e la coltura.

Incubare in camera di umidificazione in aria ambiente a 35 – 37 °C per 3 – 4 giorni, fino a un massimo di 2 settimane.

Risultati

Nei terreni a base di BCYE, *Legionella* spp. appaiono come colonie da piccole a grandi, lucenti, spesso mucoidi, incolore, tendenti al blu o al rosso. *L. pneumophila* non è autofluorescente, a differenza di numerose *Legionella* spp. Confermare la diagnosi mediante metodi di colorazione e test sierologici adeguati.²

PERFORMANCE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

BD Legionella Agar with Vancomycin and Colistin è uno dei preparati usati per l'isolamento di *Legionella* dai campioni delle vie respiratorie inferiori e dalle acque.^{2,5}

Questo terreno è solo parzialmente selettivo. Campioni o acque contenenti microflora contaminante devono essere pretrattati per contrastare un'eccessiva crescita di funghi o batteri.

Sono necessari ulteriori test per confermare l'identificazione del genere e della specie. Per accertare se un'infezione è causata da *Legionella* sono stati usati test basati su antigeni e anticorpi.^{2,6}

BIBLIOGRAFIA

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.

CONFEZIONE/DISPONIBILITÀ

BD Legionella Agar with Vancomycin and Colistin

N. di cat. 254414

Terreni su piastra pronti all'uso, confezioni da 20

N. di cat. 254543

Terreni su piastra pronti all'uso, confezioni da 120

ULTERIORI INFORMAZIONI

Per ulteriori informazioni, rivolgersi al rappresentante BD di zona.



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