

Logo Thermo Fisher  
Scientific  
**Oxoid Dehydrated Culture  
Medium  
LEGIONELLA AGAR  
BASE  
Nr Kat. CM1203**

### **Przeznaczenie**

Do użytku profesjonalnego wyłącznie w laboratoriach badających wodę przemysłową. Do przygotowania przez przeszkolonych techników laboratoryjnych zgodnie ze standardowymi procedurami przygotowywania pożywek laboratoryjnych.

Thermo Scientific™ Oxoid™ Legionella Agar Base to pożywka wzrostowa do pierwotnej izolacji i hodowli *Legionella pneumophila* i innych gatunków *Legionella* z próbek wody, do użytku z suplementem *Legionella* Growth Supplement (BCYE) (SR0251) (Edelstein BCYE Agar).

Pożywka Legionella Agar Base wzbogacona BCYE bez L-cysteiny (BCYE w/o cysteine) (SR0253A) nie wspiera wzrostu *Legionella* i może zostać użyta jako badanie potwierdzające dla przypuszczalnych kolonii *Legionella* pobranych z agaru BCYE.

Dalsze dodanie selektywnych suplementów GVPC (SR0252), MWY (SR0255) lub BMPA $\alpha$  (SR0254) do pożywki Legionella Agar Base z BCYE (CM1203 & SR0251) wytworzy selektywne podłoże do izolacji *Legionellaceae* z próbek wody.

### **Wskazania do stosowania**

Pożywki BCYE, BCYE w/o cysteine, GVPC, MWY oraz BMPA $\alpha$  – do oznaczania liczby i wykrywania gatunków *Legionella* w laboratoriach badających wodę zgodnie z ISO 11731:2017, nie są przeznaczone do użytku klinicznego lub diagnostycznego.

Pożywka BMPA $\alpha$  – do oznaczania liczby i wykrywania gatunków *Legionella* w próbkach wody, środowiskowych lub weterynaryjnych, nie jest przeznaczona do użytku klinicznego lub diagnostycznego.

### **Streszczenie i wyjaśnienie zasady działania**

Odkrycie organizmu wywołującego chorobę legionistów zostało przeanalizowane przez Fallona (1). Od tego czasu nastąpił postęp w hodowli organizmów z próbek klinicznych, a także w oznaczaniu liczby gatunków *Legionella* z próbek środowiskowych. Feeley *i in.* (2) opisali modyfikację agaru F-G Agar (3), w którym kwasowa kazeina hydrolyzowana została zastąpiona ekstraktem drożdżowym jako źródłem protein. Skrobia została zastąpiona aktywnym węglem w stężeniu końcowym 0,2% (w/v). Pożywkę tą nazwano CYE Agar (2); została ona później wzbogacona buforem ACES Buffer i  $\alpha$ -ketoglutaranem i została opisana w literaturze jako pożywka BCYE- $\alpha$  Medium (4). Wykazano, że pożywka BCYE- $\alpha$  Medium uzyskuje optymalny odzysk *Legionellaceae* w krótszym czasie inkubacji niż próbki środowiskowe (5).

Pożywka Oxoid BCYE Medium została oparta na formule Edelsteina (4) i została przygotowana z podłoża Legionella Agar Base (CM1203), buforowanego do pH 6,6-6,9 i suplementu Legionella Growth Supplement BCYE (SR0251). Sterylny liofilizowany suplement zawiera  $\alpha$ -ketoglutaran, pirofosforan żelazowy i L-cysteinę HCL. Po dodaniu do podłoża Legionella Agar Base dostarcza niezbędnych czynników wzrostowych.

Ta pożywka może być dalej wzbogacana jednym z następujących składników:

**Suplement Legionella Selective Supplement BMPA $\alpha$  (SR0254) do przygotowania agaru Legionella BMPA $\alpha$  Selective Agar**

Zawartość fiołki	Na litr
Cefamandol	4,0 mg
Siarczan polimyksyny B	80,000 IU
Anisomycyna	80 mg

Pożywka BMPA- $\alpha$  Medium była zalecana przez Edelsteina (4) do izolacji *Legionella pneumophila* ze skażonych próbek środowiskowych.

**Suplement Legionella Selective Supplement GVPC (SR0252) do przygotowania agaru Legionella GVPC Selective Agar**

Zawartość fiołki	Na litr
Glicyna (wolna od amoniaku)	3,0 g
Siarczan polimyksyny B	80,000 IU
Cykloheksymid	80 mg
Chlorowodorek wankomycyny	1,0 mg

Suplement GVPC Selective Supplement został oparty na formule opisanej przez Dennisa *in. (6)*. Ta selektywna formuła została zgłoszona jako najbardziej efektywna metoda *in vitro* do izolacji *L. pneumophila*, jeżeli jest używana w połączeniu z kwasem lub wstępny obróbkami cieplnymi. Cykloheksymid został zawarty, ponieważ posiada większą aktywność przeciwgrzybiczą niż anisomycyna, która jest prawie wyłącznie aktywna przeciw drożdżom. W środowiskach wodnych badanych pod kątem *Legionella* pleśnie zazwyczaj pojawiają się częściej niż drożdże.

**Suplement Legionella Selective Supplement MWY (SR0255) do przygotowania agaru Legionella MWY Selective Agar**

Zawartość fiołki	Na litr
Glicyna (wolna od amoniaku)	3,0 g
Siarczan polimyksyny B	50,000 IU
Anisomycyna	80 mg
Chlorowodorek wankomycyny	1,0 mg
Błękit bromotymolowy	10 mg
Purpura bromokrezolowa	10 mg

Wadowsky and Yee (7) zmodyfikowana przez Edelsteina (MWY Medium) (8) zawiera purpurę bromokrezolową i błękit bromotymolowy, które zabarwiają kolonie i wspomagają identyfikację organizmów (9, 10).

Edelstein (8) uważał pożywkę za najlepszą do izolacji *L. pneumophila* z próbek wody pitnej. Próbkę środowiskowe powinny zostać wstępnie przetworzone z użyciem buforu kwasowego

(pH 2,2) (11) lub przez obróbkę cieplną (6). Powinny one zostać posiane zarówno przed, jak i po obróbce, aby zmaksymalizować odzysk.

Dodatkowo, pożywka bez L-cysteiny może zostać przygotowana z podłoża Legionella Agar Base (CM1203) i suplementu BCYE Growth Supplement w/o cysteine (SR0253).

Legionellaceae mają bezwzględne zapotrzebowanie na L-cysteinę. Jednak po początkowym wzroście, *L. oakridgensis* oraz *L. spiritensis* mogą słabo rosnąć w przypadku braku L-cysteiny. Przepuszczalne kolonie *Legionella* spp. można przesiewać zarówno na podłożu BCYE Medium z L-cysteiną (CM01203) i (SR0251), jak i na podłożu BCYE Medium bez L-cysteiny (CM01203) i (SR0253). Wszystkie płytki są inkubowane w temp.  $36 \pm 2^\circ\text{C}$ . Kolonie, które urosły na podłożu BCYE Medium z L-cysteiną, ale nie na podłożu BCYE Medium bez L-cysteiny można przypuszczalnie uznać za *Legionella* spp.

### Zasada działania

Aktywny węgiel neutralizuje toksyny, takie jak nadtlenek wodoru, a ekstrakt z drożdży dostarcza witamin z grupy B wspierających wzrost. Bufor ACES jest dodawany celem zapewnienia odpowiedniego pH. L-cysteina i pirofosforan żelazowy są dodawane jako czynniki wzrostowe, a  $\alpha$ -ketoglutaran wspomaga wzrost. Agar jest środkiem zestalającym.

Typowy skład CM1203*	gramów na litr
Aktywny węgiel	2,0
Ekstrakt drożdżowy	10,5
$\alpha$ -ketoglutaran	0,5
Bufor ACES	10,0
Agar	13,5

pH dostosowane roztworem  
2M wodorotlenku potasu 2,0 (17,6 ml)

\* dostosowany do wymagań w celu spełnienia standardów badania

### Właściwości fizyczne

Kolor: Sypki proszek w kolorze czarnym  
Kolor po przygotowaniu: czarny  
pH (wzbogacone): 6,6 do 6,9 w  $25^\circ\text{C}$   
Klarowność: nieprzejrzysta  
Moc żelu: zwarta, porównywalna do 13,5 g/litr agaru

### Środki ostrożności

Ten produkt służy do badania wody przemysłowej w laboratoriach i powinien być używany wyłącznie przez przeszkolonych specjalistów. Obejmuje to również utylizację zużytych i nieużywanych odczynników (należy zapoznać się z kartami charakterystyk), a także jakichkolwiek skażonych materiałów zużywalnych, zgodnie z procedurami dla wyrobów zakaźnych lub potencjalnie zakaźnych. Odpowiedzialnością każdego laboratorium jest rozporządzanie wytwarzanymi odpadami zgodnie z ich rodzajem i stopniem zagrożenia oraz

ich obróbka lub utylizacja zgodnie z aktualnymi przepisami krajowymi, rejonowymi i lokalnymi. Instrukcje należy uważnie przeczytać i stosować się do nich.

## **Przechowywanie**

Pożywki należy przechowywać z dala od źródeł światła, a butelki po użyciu muszą zostać szczelnie zamknięte.

Suchą pożywkę należy przechowywać w temp. poniżej 30°C i zużyć przed upływem daty ważności na etykiecie.

## **Pobieranie, obróbka i przechowywanie próbek**

Próbki należy pobierać i poddawać obróbce zgodnie z zalecanymi wytycznymi.

## **Materiały wymagane, ale nie dostarczane**

- (1). Sprzęt laboratoryjny zgodnie z wymaganiami.
- (2). Odczynniki dodatkowe (2N) wodorotlenek potasu i pożywki hodowlane.
- (3). Organizmy do kontroli jakości zgodnie z wymaganiami.
- (4). Roztwór Legionella acid buffer solution (do obróbki kwasem, jeżeli jest wymagana, np. Thermo Scientific™ kod GFB01)
- (5). Filtry membranowe do bezpośredniego umieszczania na pożywkach hodowlanych

## **Przygotowanie 500 ml pożywki**

Rozpuścić 18,25 g w 465 ml wody destylowanej, dokładnie wymieszać i dostosować pH dodając 8,8 ml 2N KOH (wodorotlenku potasu). Doprowadzić do wrzenia, mieszając do całkowitego rozpuszczenia. Sterylizować w autoklawie w 121°C przez 15 min. Schłodzić do 45-50°C i w sposób aseptyczny dodać 25 ml suplementu BCYE (SR0251) rozpuszczonego zgodnie ze wskazówkami. Dobrze wymieszać, aby rozproszyć węgiel przed przelaniem do sterylnych szalek Petriego. Ta pożywka może zostać wzbogacona jednym z następujących selektywnych suplementów: SR0253 (BCYE bez cysteiny), SR0252 (GVPC), SR0254 (BMPA) lub SR0255 (MWY) – więcej szczegółów znajduje się na stronie internetowej firmy Thermo Fisher Scientific.

## **Technika**

### Próbki wody środowiskowej

Pełen opis sposobu kontroli znajduje się w ISO 11133, a opis szczepów kontrolnych i kryteriów działania znajduje się w ISO 11731.

*L. pneumophila* to biało-szaro-niebiesko-purpurowe kolonie z równym brzegiem, w kolorze mlecznego szkła. Kolonie wszystkich gatunków *Legionella* spp. wykazują ten sam wygląd ogólny, ale mogą różnić się pod względem zabarwienia. Mogą występować barwy takie, jak: brązowa, limonkowa, ciemnoczerwona i niebiesko-purpurowa. Po pierwszym wyizolowaniu *Legionella* to małe pałeczki gram-ujemne.

## **Kontrola jakości ISO 11731**

### **Charakterystyka wzrostu (3-5 dni inkubacji w 36 ± 2°C)**

**Badane z dodatkiem suplementu Legionella Growth Supplement BCYE SR0251  
Zaszczepienie pożywki zawiesiną zawierającą 50-120 jtk**

<i>Legionella pneumophila</i> Technika posiewu powierzchniowego	ATCC® 33152 / WDCM 00107	1-5 mm szare/niebieskawobiałe kolonie, brak fluorescencji
<i>Legionella pneumophila</i> Metoda filtracji membranowej	ATCC® 33156 / WDCM 00180	0,5-3 mm szare/niebieskawobiałe kolonie, brak fluorescencji
<i>Legionella anisa</i> Technika posiewu powierzchniowego	ATCC® 35292 / WDCM 00106	0,5-3 mm szare/niebieskawobiałe kolonie, fluorescencja słaba lub dodatnia
<i>Fluoribacter bozemanai</i> Technika posiewu powierzchniowego	ATCC® 33217	1-5 mm szare/niebieskawobiałe kolonie, fluorescencja dodatnia

**Badane z dodatkiem suplementu Legionella Growth Supplement BCYE SR0251 i  
Legionella Selective Supplement GVPC SR0252**

**Charakterystyka wzrostu (3-5 dni inkubacji w 36 ± 2°C)**

**Zaszczepienie pożywki zawiesiną zawierającą 50-120 jtk**

<i>Legionella pneumophila</i> Technika posiewu powierzchniowego	ATCC® 33152 / WDCM 00107	1-5 mm szare/niebieskawobiałe kolonie, fluorescencja ujemna
<i>Legionella pneumophila</i> Metoda filtracji membranowej	ATCC® 33156 / WDCM 00180	0,25-3 mm szare/niebieskawobiałe kolonie, fluorescencja ujemna
<i>Legionella anisa</i> Technika posiewu powierzchniowego	ATCC® 35292 / WDCM 00106	0,25-3 mm szare/niebieskawobiałe kolonie, fluorescencja słaba lub dodatnia
<i>Fluoribacter bozemanai</i> Technika posiewu powierzchniowego	ATCC® 33217	1-5 mm szare/niebieskawobiałe kolonie, fluorescencja dodatnia

**Zaszczepienie pożywki zawiesiną zawierającą 1,0·10<sup>4</sup> do 1,0·10<sup>6</sup> jtk**

<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC® 19433 / WDCM 00009	Brak wzrostu
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC® 29212 / WDCM 00087	Brak wzrostu lub do 10 jtk, punkt-1 mm średnicy, białe/szare kolonie
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 25922 / WDCM 00013	Brak wzrostu lub 3 log współczynnik redukcji w porównaniu z pożywką kontrolną TSA 0,25-5 mm białe/szare kolonie
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 8739 / WDCM 00012	Brak wzrostu lub 3 log współczynnik redukcji w

		porównaniu z pożywką kontrolną TSA 0,25-5 mm białe/szare kolonie
--	--	---

**Zaszczepienie pożywki zawiesiną zawierającą  $1,0 \cdot 10^3$  do  $1,0 \cdot 10^5$  jtk**

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC® 27853 / WDCM 00025	Brak wzrostu lub 2 log współczynnik redukcji w porównaniu z pożywką kontrolną TSA, 1-2 mm słomkowe/szare kolonie
-------------------------------	--------------------------	--

**Inokulacja techniką nakłuwania**

**Zaszczepienie pożywki zawiesiną zawierającą  $1,0 \cdot 10^4$  do  $1,0 \cdot 10^6$  jtk**

<i>Apergillus brasiliensis</i>	ATCC® 9179	Brak wzrostu lub wzrost minimalny
--------------------------------	------------	-----------------------------------

**Uwaga:**

Odpowiedzialnością użytkownika jest przeprowadzenie kontroli jakości z uwzględnieniem przeznaczenia pożywki oraz zgodnie z obowiązującymi przepisami lokalnymi (dot. częstotliwości, liczby szczepów, temperatury inkubacji, itd.).

**Charakterystyka**

**Wydajność pożywki została** oceniona przy użyciu 9 szczepów bakteryjnych i 1 szczepu pleśni (przebadano szczepy dodatkowe, nieujęte w ISO 11731). Wszystkie organizmy wykazały charakterystykę wzrostu zgodną z kryteriami ISO 11731.

**Ograniczenia**

Tak jak w przypadku wszystkich pożywek, organizmy nietypowe mogą wywoływać nietypowe reakcje. Pewna liczba nietypowych szczepów może dawać słabą reakcję lub nie rosnąć w ogóle, szczególnie w przypadku próbek, w których obecna jest niewielka liczba organizmów.

Użytkowanie filtrów różnych firm może skutkować różnymi stopniami odzysku, dlatego powinny one zostać przetestowane przed użyciem.

Wykrywanie obecności jest metodą wstępną, dlatego do identyfikacji izolatu wymagane jest zastosowanie metod biologicznych, serologicznych i innych. Niektóre zarodnikujące organizmy termofilne po inkubacji w 36°C są bardzo podobne do kolonii *Legionella*. Te organizmy można wykryć poprzez inkubację płytek równolegle w 36°C i 55°C - organizmy termofilne wzrastają w wyższej temperaturze, podczas gdy *Legionella* spp. nie wzrasta w temperaturze powyżej 45°C.

**Pakowanie**

Kod produktu	Skrót	Waga (KG)
CM1203	B	0,5

	R	2,5
--	---	-----





### Utylizacja odpadów




Informacje na temat utylizacji odpadów znajdują się w odpowiednich Kartach Charakterystyki produktu.

### Bibliografia

1. Fallon J. Culture September, Cult Sept 1979, 1979;3-4.
2. Feeley JC, Gibson RJ, Gorman GW, Langford NC, Rasheed JK, Mackel DC, et al. Charcoal-yeast extract agar: primary isolation medium for *Legionella pneumophila*. J Clin Microbiol. 1979 Oct;10(4):437-41.
3. Feeley JC, Gorman GW, Weaver RE, Mackel DC, Smith HW. Primary isolation media for Legionnaires disease bacterium, J Clin Microbiol. 1978 Sep ;8(3):320-5.
4. Edelstein PH. Improved semiselective medium for isolation of *Legionella pneumophila* from contaminated clinical and environmental specimens. J Clin Microbiol. 1981 Sep; 14 (3):298-303.
5. PHLS Communicable Diseases Report (1983) CDR 83/49.
6. Vesey G., Dennis P.J., Lee J.V. and West A.A. (1988) *J. Appl. Bact.* 65. 339-345.
7. Wadowsky R.M. and Yee R.B. (1981) *J. Clin. Newsletter* 4. 768-772.
8. Edelstein P.H. (1982) *J. Clin. Micro.* 16. 697-699.
9. Vickers R.M., Brown A. and Garrity G.M. (1981) *J. Clin. Micro.* 13. 380-283.
10. Renner E.D. and Tseng C.H. (1982) *Clin. Microbiol. Newsletter* 4. 139, 142.
11. Bopp C. A., Sumner J. W., Morris G. K. and Wells J. G. (1981) *J. Clin. Micro.* 13. 714-719.

### Tabela symboli

Symbol	Znaczenie
	Numer katalogowy
	Producent
	Limit temperatury (temperatura przechowywania)
	Data ważności

	Numer serii
	Trzymać z dala od źródeł ciepła
	Zapoznać się z instrukcją użycia

Logo The ATCC Licensed Derivative®

Symbol ATCC Licensed Derivative®, słowny znak towarowy ATCC Licensed Derivative® i znaki katalogowe ATCC to znaki handlowe ATCC. Firma Thermo Fisher Scientific Inc. posiada licencję na użytkowanie tych znaków handlowych oraz na sprzedaż produktów pochodzących z hodowli ATCC®.

© 2020 Thermo Fisher Scientific Inc. Wszelkie prawa zastrzeżone. Wszystkie znaki handlowe są własnością firmy Thermo Fisher Scientific i jej spółek zależnych, chyba, że określono inaczej. ATCC® jest znakiem handlowym American Type Culture Collection. Informacje te nie mają na celu zachęcania do korzystania z tych produktów w jakikolwiek sposób, który mógłby naruszać prawa własności intelektualnej innych osób.



Oxoid Ltd  
Wade Road, Basingstoke, Hants RG24 8PW  
UK

Tłumaczenie:  
dystrybutor Argenta Sp. z o. o. Sp. K.  
ul. Polska 114  
60-401 Poznań  
dn. 12.01.2021