

Основа агара для легионелл

Legionella CYE Agar Base ISO 11731-2

Кат. № 1311
Фасовка 500 г.
Хранить при температуре 2-25°C

Среда для селективного выделения и культивирования легионелл

ФОРМУЛА В ГРАММАХ НА ЛИТР

Дрожжевой экстракт	10,0
Активированный уголь	2,0
Бактериологический агар	13,0

Конечная величина pH $6,9 \pm 0,2$ при 25°C



Legionella pneumophila ATCC 33153

ПРАКТИЧЕСКАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Селективный подсчет – *Legionella*

Область применения: Анализ воды

Нормативы: ISO 11133 / ISO 11731

ПРИГОТОВЛЕНИЕ

Развести 12,5 г среды в 500 мл дистиллированной воды. Помешивая довести до кипения. Кипятить до полного растворения среды. Разлить в емкости и стерилизовать в автоклаве 15 мин при 121°C. Охладить до 45–51°C.

Приготовить *Добавку ростовую для легионелл (кат. № 6122)*, восстановив 1 флакон лиофилизата 1 флаконом растворителя. Асептически внести приготовленную добавку в среду.

При необходимости добавить к среде 1 флакон *Добавки GVPC для легионелл (кат. № 6025)*, предварительно растворенной в 10 мл стерильной дистиллированной воды.

Для приготовления среды MWY, внести 1 флакон *Добавки MWY для легионелл (кат. № 6067)*.

Хорошо перемешать и разлить в чашки Петри и дать застыть на плоской поверхности. Засеять чашки штрихом или методом микрофильтрации.

Дать засеянным чашкам постоять до тех пор, пока инокулят не абсорбируется. Перевернуть чашки и инкубировать при $36 \pm 2^\circ\text{C}$ в течение 2, 3, 5-10 дней.

Чтобы воздух в инкубаторе был влажным, можно поставить на дно инкубатора поддон с водой. Добавлять в лоток свежую воду (при необходимости) каждый раз при проверке чашек. Инкубация в атмосфере воздуха с 2,5% (объемной долей) CO₂ может быть полезной для роста некоторых *легионелл*, но это не обязательно.

В течение 10-дневного инкубационного периода исследовать чашки под микроскопом не менее трех раз с интервалом от 2, 3 до 5 дней, поскольку *легионеллы* растут медленно и могут быть замаскированы ростом других организмов. Записать количество присутствующих колоний каждого типа.

Колонии *легионелл* часто имеют бело-серо-сине-фиолетовый цвет, но могут быть коричневыми, розовыми, лаймово-зелеными или красными. Они гладкие, с гладкими краями и имеют характерный вид матового стекла. В ультрафиолетовом свете колонии некоторых видов автофлюоресцируют ярко-белым, другие - красными, а *L. pneumophila* выглядят тускло-зелеными, часто с желтым оттенком. Все предполагаемые колонии должны быть подтверждены культуральными, биохимическими, серологическими или генетическими методами.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

Основа агара для легионелл с добавками является оптимальной средой для культивирования *легионелл* в относительно короткие сроки инкубации для анализа проб из окружающей среды и клинических образцов.

Feely и соавт. описали модификацию F-G агар, в которой кислый гидролизированный казеин был заменен дрожжевым экстрактом в качестве источника белка, а крахмал был заменен активированным углем. Данная среда, которая получила название Агар СУЕ, была дополнительно дополнена буфером ACES и α -кетоглутаратом и описана в литературе как Среда СУЕ. Среда СУЕ, как было показано, дает оптимальное восстановление *Legionellaceae* в более короткий инкубационный период из образцов окружающей среды и клинических образцов.

Дрожжевой экстракт является источником витаминов, особенно группы В, и других кофакторов роста. L-цистеин является необходимым источником питательных веществ. Активированный уголь абсорбирует и нейтрализует токсичные продукты метаболизма, разлагая перекись водорода, токсичные продукты метаболизма, продуцируемые микроорганизмами в процессе роста.

ISO 11731 рекомендует следующую процедуру для выделения *легионелл* и их подсчета в образцах воды. Образцы концентрируют мембранной фильтрацией, разбавляют или инокулируют непосредственно на чашку в зависимости от происхождения и характеристик образца. Независимые фракции разбавленного образца следует подвергать термической или кислотной обработке в случае высокой концентрации легионеллы и других бактерий. Эти образцы переносят на чашки с селективной культуральной средой, выбранной для *Legionella*.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Растворимость	Без осадка
Внешний вид	Тонкодисперсный порошок
Цвет сухой среды	Черный
Цвет готовой среды	Черный
Конечный pH (при 25°C)	6,9 \pm 0,2

ПРИМЕНЕНИЕ

В соответствии с международным стандартом ISO 11731 рекомендуются следующие шаги для подтверждения колоний *легионелл*:

Если образец содержит высокую концентрацию *легионелл* и низкую концентрацию сопутствующих микроорганизмов:

- Инокулировать напрямую 0,1-0,5 мл образца, равномерно распределяя его по чашке с агаром СУЕ (Кат. № 1311 + Кат. № 6122) и на чашке с агаром СУЕ+АВ.

Если образец содержит низкую концентрацию *легионелл* и низкую концентрацию сопутствующих микроорганизмов:

- Профильтровать исходный образец через мембранный фильтр.
- Поместить фильтр на чашку с агаром СУЕ.
- Повторить процедуру с **Основой агара для легионелл (Кат. № 1311 + Кат. №6025)** и/или **Агаре MWY (кат. 1311 + кат. 6122 + кат. 6067)**.

Если образец содержит и высокую концентрацию сопутствующих микроорганизмов:

- Разделите каждый тип образца на три части. Один из них будет использоваться необработанным, второй - термической обработкой, а третий - кислотной обработкой.
- Инокулировать 0,1-0,5 мл на чашки с агаром GVPC и/или агаром MWY (кат. 1311 + кат. 6122 + кат. 6067).

Если образец содержит очень высокие концентрации сопутствующих микроорганизмов:

- Каждый образец подвергается комбинированной термической и кислотной обработке.
- Инокулировать 0,1-0,5 мл на чашки с агаром GVPC и/или агаром MWY (кат. 1311 + кат. 6122 + кат. 6067).
- Оставить инокулированные тарелки в покое, пока инокулят не абсорбируется. Инкубировать при $36\pm 2^{\circ}\text{C}$ в течение 7-10 дней.
- Подтвердить предположительные колонии *легионелл*.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ ТЕСТ

Согласно ISO 11133:

Инкубирование: $36\pm 2^{\circ}\text{C}$. 2-5 дней

Условия инокуляции: Продуктивность количественная (100 ± 20 . Мин. 50 КОЕ).

Эталонная среда: партия среды ВСУЕ уже прошедшая контроль качества.

Микроорганизмы	Рост	Цвет колоний
<i>Legionella pneumophila</i> ATCC 33152	Хороший, >70%	Бело-серо-сине-пурпурные колонии с целыми краями, имеют характерный внешний вид матового стекла