

## Specifikace

Sterilní selektivní doplněk pro izolaci druhů *Legionella* ze vzorků vody z životního prostředí.

## Prezentace

10 lyofilizovaných lahviček

Lahvička s:  $9 \pm 0.1$  g

### Podrobnosti o balení

Skleněné lahvičky 23x60 mm, označené štítkem, bílý plastový uzávěr - 10 lahviček v krabici.

### Doba použitelnosti

49 měsíců

### Skladování

2-25 °C

## Složení

Složení (g/lahvičku)

Glycin (bez amoniaku) .....1.5000  
Vankomicin.....0.0005  
Síran polymyxinu B.....40000 IU  
Cyklohexymid .....0.0400

Rekonstituujte původní lyofilizovanou lahvičku přidáním :

Sterilní destilovaná voda .....10 ml

## Popis /Technika

### Popis:

Objevení původce legionářské nemoci umožnilo velký pokrok ve studiích týkajících se této nemoci. V posledních letech byla vyvinuta nová média pro kultivaci a stanovení počtu *Legionella* spp.

Selektivní doplněk *Legionella* GVPC po přidání do agarového základu dodává antibiotickou podporu, aby bylo možné získat selektivní konečné médium.

Selektivita se zvyšuje přidáním vankomicinu, který působí proti gram pozitivním bakteriím, polymyxinu B, který inhibuje gramnegativní bakterie, a cykloheximidu nebo natamycinu, které jsou antimykotika a inhibují růst kvasinek.

### Technika:

Odebírat, ředit a připravovat vzorky a objemy podle požadavků specifikací, směrnic, úředních standardních předpisů a/nebo očekávaných výsledků.

Rekonstituujte 1 lahvičku selektivního doplňku GVPC 10 ml do sterilní destilované vody za aseptických podmínek a přidejte ji do 500 ml roztaveného agarového základu *Legionella* BCYE (LC1311) ochlazeného na 47-50 °C a předtím doplněného doplňkem pro růst *Legionella* BCYE (LC6022). Po doplnění nepřehřívejte.

Nalijte kompletní médium do Petriho misek a po ztuhnutí je položte na rovný povrch. Destičky rozetřete metodou streakingu nebo metodou MF.

Očkovací desky nechte stát, dokud se inkulum nevstřebá. Destičky se obrátí a inkubují při teplotě  $36 \pm 2$  °C po dobu 2, 3, 5 až 10 dnů. Abyste zajistili vlhké prostředí v inkubátoru, umístěte na dno inkubátoru misku s vodou. Tuto misku doplňte čerstvou vodou (je-li to nutné) při každé kontrole destiček. Inkubace v atmosféře vzduchu s 2,5 % (objemový zlomek) CO může být pro růst některých bakterií rodu *Legionella* prospěšná, není však nezbytná.

Během desetidenní inkubační doby zkontrolujte destičky mikroskopem nejméně třikrát v intervalu 2,3 až 5 dnů, protože *legionely* rostou pomalu a mohou být maskovány růstem jiných organismů. Zznamenejte počet každého typu přítomných kolonií.

Kolonie bakterií rodu *Legionella* mají často bílo-šedo-modro-fialovou barvu, ale mohou být i hnědé, růžové, limetkově zelené nebo tmavě červené. Jsou hladké s hladkými okraji a mají charakteristický vzhled broušeného skla. V ultrafialovém světle kolonie několika druhů autofluoreskují zářivě bíle, ale jiné jsou červené a *L. pneumophila* se jeví matně zelené, často zbarvené žlutě. Všechny předpokládané kolonie musí být potvrzeny kultivačními, biochemickými, sérologickými nebo genetickými metodami.

## Kontrola kvality

### Fyzikální a chemická kontrola:

Barva : Světle béžová      pH: při 25 °C

### Mikrobiologická kontrola

Rekonstituuje 1 injekční lahvičku podle pokynů uvedených v části SLOŽENÍ; protřepejte a zcela rozpustíte .

Přidejte 1 injekční lahvičku do 500 ml základního média. Po doplnění neohřívajte.

Analytická metodika podle ISO 11133:2014/A1:2018; A2:2020.

Aerobióza. Inkubace při 36 ± 2 °C.

Odečet po 2-5 dnech pro *L. pneumophila*, 5-10 dnech pro *L. anisa* a 3 dnech pro selektivitu.

Mikrobiologická kontrola podle normy ISO 11133:2014/A1:2018.

### Mikroorganismy

\**Legionella anisa* ATCC 35292, WDCM 00106 (podle MF)

\**Legionella anisa* ATCC 35292

\**Legionella pneumophila* ATCC 33152, WDCM 00107 (podle MF)

\**Legionella pneumophila* ATCC 33152

\**Escherichia coli* ATCC 25922, WDCM 00013

\**Enterococcus faecalis* ATCC 19433, WDCM 00009

referenční médium je validováno GVPC.

### Růst

Dobry (≥ 70 %) šedomodrych kolonií

Dobry (≥ 70 %) šedomodré kolonie

Dobry (≥ 70 %) šedomodré kolonie

Dobry (≥ 70 %) šedomodré kolonie

Inhibován (částečně až úplně)

Inhibován

### Kontrola sterility

Přidejte 5 ml vzorku do 100 ml TSB a do 100 ml thioglykolátu.

Inkubace 48 h při 30-35 °C a 48 h při 20-25°C: NEROSTE

Kontrola po 7 dnech inkubace za stejných podmínek.

### Bibliografie

- ATLAS, R.M. & L.C. PARKS (1993) Handbook of Microbiological Media. CRC Press. BocaRaton. Fla. USA.
- CLESCERI, L.S., A.E. GREENBERG & A.D. EATON (1998) Standardní metody pro vyšetřování vody a odpadních vod. 9-106. <sup>th</sup>20 vydání. APHA-AWWA-WEF. Washington DF, USA.
- EDELSTEIN, P.H., (1981) Vylepšené semiselektivní médium pro izolaci *Legionella pneumoniae* z kontaminovaných klinických vzorků a vzorků z prostředí. J. Clin Microbiol. 14(3):298.
- FEELEY, J.C., R.J. GIBSON, G.W. GORMAN, N.C. LANGFORD, J.K. RASHEED, C.D. MACKEL, & W.B. BAINE (1979) Charcoal-Yeast Extract Agar: Primární izolační médium pro *Legionella pneumophila*. J. Clin. Microbiol. 10(4) 437.
- Norma ISO 11731 (2017) Kvalita vody - Stanovení počtu *legionel*.
- ISO 11133:2014/ Adm 1:2018/ Adm1 :2018. Mikrobiologie potravin, krmiv a vody. Příprava, výroba, skladování a zkoušení účinnosti kultivačních médií.
- MacFADDIN, J.F. (1985) Média pro izolaci-kultivaci-identifikaci-udržování lékařských bakterií.
- PASCULLE, A.W., J.C. FEELEY, R.J. GIBSON, L.G. CORDES, R.L. MYEROWITZ, C.M. PATTON, G.W. GORMAN, C.L. CARMACK, J.W. EZZELL & J.N. DOWLING (1980) Pittsburgh pneumonia agent: Přímý izolace z lidské plicní tkáně. J. Infect. Dis., 141:727.
- UNE-EN ISO 11133 (2014). Microbiología de los alimentos para consumo humano, alimentación animal y agua.-Preparación, producción, conservación y ensayos de rendimiento de los medios de cultivo.
- WARD, K.W. (1995) Processing and interpretation of specimens for *Legionella spp*. In "Clinical Microbiology Procedures Handbook" Chap. 12.1 edited b H.D. Isenberg. ASM Press. Washington DC, USA.