

TECHNISCHES DATENBLATT

Artikel Nr. 9664

Legionella BCYE Agar

SPEZIFIKATION

Fester Nährboden für den Nachweis, die Isolierung und die Auszählung von *Legionella spp.* aus Wasser gemäß ISO 11731.

Farbe: schwarz
pH: 6,8 ± 0,2 bei 25 °C

FORMULIERUNG* IN G/L

Aktivkohle	2,00
Hefeextrakt	10,00
ACES-Puffer	10,00
Kaliumhydroxid	2,80
Alfa-Ketoglutarat	1,00
Cystein	0,40
Eisen(III)pyrophosphat	0,25
Agar	15,00

VERPACKUNGSEINHEITEN

9664-20PLATES

20 Fertigplatten 90 mm

Inhalt: 23 ± 1 ml

Verpackungseinheit: 1 Karton mit 2 Beuteln mit 10 Platten/Beutel. Zellophan.



RICHTLINIEN

Beschreibung:

Die eigentliche Formulierung dieses Mediums entspricht den ISO-Normen 11731, aber BCYE Agar basiert auf einer Abwandlung eines zuvor beschriebenen Mediums. 1979 beschrieben Feeley und Mitarbeiter Charcoal Yeast Extract (CYE) Agar als eine Abwandlung des F-G Agar. Sie ersetzten die Stärke im F-G-Agar durch Aktivkohle und ersetzten Hefeextrakt durch Casein-Hydrolysat, was zu einer besseren Rückgewinnung von *Legionella pneumophila* führt. Pasculle berichtete 1980, dass CYE-Agar durch Pufferung des Mediums mit ACES-Puffer verbessert werden konnte, und ein Jahr später erhöhte Edelstein die Empfindlichkeit des Mediums durch Zugabe von α -Ketoglutarat, was der heutigen Formulierung (BCYE-Agar) entspricht.

Das Medium besteht aus einem Basismedium mit Wachstumsfaktoren (BCYE-Agar) und dem Selektivmedium mit Hemmstoffen für unerwünschte Begleitflora. Der Hefeextrakt liefert die Grundnährstoffe, da das Medium keine fermentierbaren Kohlenhydrate enthält. L-Cystein, Eisen(III)-pyrophosphat und α -Ketoglutarat werden zugesetzt, um den spezifischen Nährstoffbedarf der Legionella-Arten zu decken.

Die Aktivkohle zersetzt Wasserstoffperoxid, ein toxisches Stoffwechselprodukt, und kann auch CO₂ binden und die Oberflächenspannung verändern.

Die Zugabe des Puffers hilft, den richtigen pH-Wert für optimales Wachstum aufrechtzuerhalten. Die Selektivität wird durch den Zusatz von Vancomycin und Polymyxin B, die Gram-positive Bakterien hemmen, und Cycloheximid oder Natamycin, die als Antimykotika das Hefewachstum hemmen, erhöht.

Verfahren:

Zur Gewinnung isolierter Kolonien aus Proben und Mustern sind die ISO-Normen 11731 oder andere Standardverfahren heranzuziehen. Die geimpften Platten stehen lassen, bis das Inokulum absorbiert ist. Die Platten umdrehen und bis zu 5 Tage lang bei 36 ± 2 °C bebrüten. Eine feuchte Atmosphäre im Inkubator gewährleisten, z.B. mit einer Schale Wasser auf den Boden des Inkubators. Füllen Sie diese Schale mit frischem Wasser auf (falls erforderlich) jedes Mal, wenn die Platten untersucht werden. Das Bebrüten in einer Atmosphäre aus Luft mit 2,5 % (Volumenanteil) CO₂ kann für das Wachstum einiger Legionellen von Vorteil sein, ist aber nicht unbedingt erforderlich.

Untersuchen Sie die Platten mikroskopisch mindestens dreimal im Abstand von 2 bis 4 Tagen während der 10-tägigen Inkubationszeit, da Legionellen langsam wachsen und durch das Wachstum anderer Organismen verdeckt werden können. Notieren Sie die Anzahl jeder vorhandenen Kolonieart.

Legionellen-Kolonien sind oft weiß-grau-blau-violett, können aber auch braun, rosa, lindgrün oder tiefrot sein. Sie sind glatt mit glatten Rändern und haben ein charakteristisches, glasiges Aussehen. Unter ultraviolettem Licht leuchten die Kolonien mehrerer Arten leuchtend weiß, andere sind rot und *L. pneumophila* erscheint stumpfgrün, oft mit gelber Färbung. Alle mutmaßlichen Kolonien müssen durch kulturelle, biochemische, serologische oder genetische Methoden bestätigt werden.

WACHSTUMSKONTROLLE

Beimpfen: Praktischer Bereich 100 ± 20 KBE. Min. 50 KBE (Produktivität)

Mikrobiologische Kontrolle nach ISO 11133:2014/A1:2018.

Analytische Methodik nach ISO 11133:2014/A1:2018; A2:2020.

Aerobiose. Inkubation bei 36 ± 2 °C, Ablesen nach 2-5 Tagen.



Mikroorganismus	Wachstum
<i>Legionella pneumophila</i> ATCC® 33152, WDCM 00107	Gut (≥70%)
<i>Legionella anisa</i> ATCC® 35292, WDCM 00106	Gut (≥70%)

Sterilitätskontrolle:

Bebrütung 48 Stunden bei 30-35 °C und 48 Stunden bei 20-25 °C: KEIN WACHSTUM.

Kontrolle 7 Tage nach der Bebrütung unter gleichen Bedingungen.

REFERENZEN

- 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) Standard methods for the examination of water and wastewater. 9-106. 20th edition. APHA-AWWA-WEF. Washington DF, USA.
- EDELSTEIN, P.H., (1981) Improved semiselective medium for the isolation of *Legionella pneumoniae* from contaminated clinical and environmental specimens. 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: Primary isolation medium for *Legionella pneumophila*. J. Clin. Microbiol. 10(4) 437.
- ISO 11731 Standard (2017) Water Quality - Enumeration of *Legionella*.
- ISO 11133:2014/ Adm 1:2018/ Adm1 :2018. Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
- MacFADDIN, J.F. (1985) Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria.
- 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: Direct isolation from human lung tissue. 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.

LAGERUNG

2-14 °C

HALTBARKEIT

3 Monate ungeöffnet ab Herstellungsdatum

erstellt: 12.08.2022

