

Legionella Buffered Charcoal Yeast Extract (BCYE) Agar Base

DM258

Uso previsto

Terreno di base utilizzato per l'isolamento di *Legionella* spp. da campioni clinici e ambientali.

Contenuto

Cfr. etichetta della confezione.

Composizione*

	Concentrazione nel terreno:
Carbone attivo	1,5g/litro
Estratto di lievito	10,0g/litro
Tampone ACES	6,0g/litro
Pirofosfato ferrico	0,25g/litro
α -chetoglutarato	1,0g/litro
Agar	12,0g/litro
pH finale: 6,9 \pm 0,2	

Conservazione e validità

Tutti i contenitori dei terreni di coltura disidratati dovrebbero essere tenuti ben chiusi e conservati in un luogo asciutto da 10 a 25°C fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta della confezione.

Precauzioni

Esclusivamente per uso diagnostico *in vitro*. Rispettare le precauzioni di sicurezza ed impiegare tecniche asettiche. Deve essere utilizzato solo da personale di laboratorio opportunamente qualificato. Prima dell'eliminazione, sterilizzare tutti i materiali biologici pericolosi. Consultare la scheda di sicurezza del prodotto (disponibile a richiesta o sul sito web MAST®).

Materiali richiesti ma non forniti

Attrezzature e prodotti per analisi microbiologiche di base, per esempio: anse, supplementi selettivi MAST®, tamponi, inceneritori, termostati, ecc.. Inoltre: reagenti per indagini sierologiche e biochimiche, e supplementi (per es.: sangue).

Procedimento

1. Consultare l'etichetta della confezione per le quantità e i volumi richiesti. Preparare il Legionella BCYE Agar Base (DM258D) MAST® sospendendo la polvere in acqua distillata o deionizzata. Per le confezioni in busta, sospendere l'intero contenuto della busta nel volume indicato sull'etichetta della confezione.
2. Sterilizzare in autoclave a 121°C (15 p.s.i.) per 15 minuti.
3. Raffreddare a 50 a 55°C e mantenere a questa temperatura in bagnomaria. Aggiungere L-Cysteine Growth Supplement (SV35) MAST®.
4. Se necessario, il terreno può essere reso selettivo con l'aggiunta di Legionella MAST® SELECTATAB (MWY) (MS36) o Legionella MAST® SELECTAVIAL (PNV) (SV37).

5. Dopo l'aggiunta dei supplementi, ruotare 3 a 4 volte e agitare per inversione il flacone, per garantire un'uniforme dispersione del carbone.
6. Versare in piastre di coltura (20 ml per piastra) e lasciare solidificare. Si suggerisce l'impiego delle piastre Petri ventilate, poiché aiutano a preservare l'umidità, favorevole a *Legionella*.
7. Dopo la preparazione, le piastre possono essere utilizzate immediatamente o conservate in sacchetti di plastica a 2 a 8°C per una settimana.
8. Prima dell'uso, asciugare la superficie delle piastre e seminare i campioni direttamente sulla superficie delle piastre a cui sono stati aggiunti i supplementi. Con i terreni selettivi si consiglia, come per tutti i metodi di coltura selettivi, di includere in parallelo una piastra non selettiva.
9. Incubare in atmosfera umidificata a 35 a 37°C, preferibilmente contenente il 2,5% di CO₂ per 3 a 7 giorni.

Interpretazione dei risultati

Al termine dell'incubazione verificare la crescita dei microrganismi. Le caratteristiche tipiche da osservare includono: dimensione, morfologia delle colonie e pigmentazione. Le colonie di *L. pneumophila* sono di colore bluastro-bianco e di aspetto trasparente. In base all'assoluto fabbisogno di L-cisteina da parte di *Legionella* spp., un microrganismo che cresce su BCYE Agar addizionato con L-cisteina-HCl, e non cresce su BCYE Agar senza L-cisteina, può essere presuntivamente identificato come *Legionella* spp. Questa prova di conferma può essere effettuata molto semplicemente con i prodotti MAST®: infatti la L-cisteina è l'unico componente del supplemento di crescita.

Controllo qualità

Verificare se sono presenti segni di deterioramento. Il controllo di qualità deve essere eseguito impiegando almeno un microrganismo che mostri una reazione positiva ed almeno un microrganismo che mostri una reazione negativa. Non utilizzare il prodotto se le reazioni con i microrganismi di controllo non sono corrette. Di seguito sono elencati alcuni ceppi per il controllo di qualità che possono essere facilmente reperiti in commercio.

Microrganismi	Risultato*
<i>Legionella pneumophila</i> ATCC® 33152	Crescita
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Nessuna crescita

*questi risultati sono rappresentativi di quelli ottenuti con MAST® Selective Legionella Agar

Bibliografia

La pertinente bibliografia è disponibile su richiesta.