ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

ΠΡΟΪΟΝ: **LEGIONELLA AGAR (BCYE)**
ΚΩΔΙΚΟΣ: **010055**

Ημ. 1ης Έκδοσης: 7ος 2009
Ημ. 4ης Αναθεώρησης: 11ος 2023

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

Το LEGIONELLA AGAR (BCYE) (Buffered Charcoal Yeast Extract) χρησιμοποιείται για την καλλιέργεια της *Legionella* από τα κλινικά και περιβαλλοντικά δείγματα.

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η βάση του υποστρώματος περιέχει εκχύλισμα μαγιάς και ξυλάνθρακα (Charcoal) για να παρέχει τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά στην ανάπτυξη της *Legionella*.
Η απόδοση αυτού του μέσου ενισχύεται περαιτέρω από τις προσθήκες L-κυστίνης, πυροσταφυλικού σίδηρου και α-Ketoglutarate.
Το ACES Buffer διατηρεί το pH του υλικό σταθερό στο 6.9 ± 0.1 γιατί η *Λεγιονέλλα* είναι πολύ ευαίσθητη στις μεταβολές του pH.

ΣΥΝΘΕΣΗ	g/litre
Yeast Extract	10.00g
Charcoal	2.00g
Ferric Pyrophosphate	0.25g
ACES Buffer	10.00g
Potassium Carbonate	2.28g
Agar	14.00g
L-Cysteine	400mg
α-ketoglutarate	1000mg

Εμφάνιση: Μαύρο μη διαυγές.
Τελικό pH 6.9 ± 0.1 στους 25 °C.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Το LEGIONELLA AGAR (BCYE) είναι in vitro εργαστηριακό διαγνωστικό υλικό και πρέπει να χειρίζεται μόνο από εξειδικευμένα άτομα του εργαστηρίου.
Το υλικό αυτό περιέχει πεπτόνες και εκχυλίσματα ζωικής προέλευσης. Τα πιστοποιητικά για την προέλευση και την υγειονομική κατάσταση των ζώων δεν εγγυόνται πλήρως την απουσία μεταδιδόμενων παθογόνων παραγόντων. Γι' αυτό συνιστάται αυτά τα υλικά να αντιμετωπίζονται ως δυνητικώς μολυσματικά και με τήρηση των συνήθων μέτρων ασφαλείας (να μη λαμβάνονται από την πεπτική ή την αναπνευστική οδό).
Ο χειρισμός των τρυβλίων να γίνεται πάντα με γάντια και μέσα σε Laminar flow Class II, για να αποφεύγονται επιμολύνσεις κυρίως από σαπροφυτικούς μύκητες.
Εάν το τρυβλίο είναι ραγισμένο ή το σακουλάκι τρύπιο, μη το χρησιμοποιήσετε.
Μη χρησιμοποιείτε τα τρυβλία εάν παρουσιάζουν ενδείξεις μικροβιακής μόλυνσης.
Το πάχος του άγαρ πρέπει να είναι 4 - 5 mm και το υλικό χωρίς ρωγμές, ξηρότητα ή άλλα σημεία αλλοίωσης.
Μετά την ημερομηνία λήξεως το υλικό είναι ακατάλληλο για χρήση.
Σε περίπτωση επαφής με το δέρμα πλένουμε αμέσως με άφθονο νερό και σαπούνι.
Τα θετικά δείγματα πρέπει να καταστρέφονται σύμφωνα με τους κανόνες υγιεινής που προβλέπονται για τη διαχείριση μολυσματικών δειγμάτων.

ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ

Τα τρυβλία πρέπει να φυλάσσονται στους 2 – 8 °C μέσα στη συσκευασία τους μέχρι τη στιγμή της χρήσης τους.
Παρατεταμένη φύλαξη σε θερμοκρασία κάτω των 2 °C δημιουργεί αρκετή υγρασία μέσα στο υλικό με κίνδυνο επιμόλυνσης. Η κατάψυξη ακόμα και στιγμιαία, καταστρέφει το υλικό. Επίσης αποφεύγεται την υπερβολική θέρμανση.
Τα τρυβλία είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα.
Εάν ανοίξετε την αεροστεγή συσκευασία του τρυβλίου κατά λάθος, μπορείτε να το φυλάξετε στο ψυγείο για 5 – 7 μέρες αφού το σφραγίσετε με παραφίλμ η με σακουλάκι.
Για την μεταφορά οι μελέτες σταθερότητας μας έδειξαν ότι τα τρυβλία μπορούν να παραμείνουν στους 6 - 25 °C για 3 ημέρες ή στους 25 - 40 °C για 24 ώρες, χωρίς να επηρεαστεί η απόδοση του προϊόντος.

ΤΡΟΠΟΣ ΧΡΗΣΗΣ

Το συγκεντρωμένο δείγμα πρέπει να χωριστεί σε 3 μέρη. Το πρώτο μέρος χρησιμοποιείται χωρίς περαιτέρω επεξεργασία, τα άλλα 2 μέρη πρέπει να επεξεργαστούν.
Θερμική επεξεργασία. Πάρτε 1ml του συγκεντρωμένου δείγματος και τοποθετήστε σε ένα υδατόλουτρο στους 50 °C για 30 λεπτά.
Όξινη επεξεργασία. Πάρτε 1-10ml του συγκεντρωμένου δείγματος και φυγοκεντρίστε στις 6000 rpm για 10 λεπτά. Μεταγγίστε το υπερκείμενο νερό για να αφήσετε το μισό αρχικό όγκο. Αναδεύεται σε vortex μέχρι να ομογενοποιηθεί το δείγμα και συμπληρώστε μέχρι τον αρχικό όγκο με HCl-KCl buffer κρατείστε το δείγμα για 5 λεπτά.
Εμβολιάστε τρία τρυβλία με 0.1ml από κάθε δείγμα. Τα δείγματα της θερμικής και όξινης επεξεργασίας πρέπει να εμβολιαστούν αμέσως μετά την ολοκλήρωση του χρόνου επεξεργασίας.
Επωάστε στους 35-37 °C σε αερόβιο υγρό περιβάλλον για 10 μέρες.

ΑΝΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΕΡΜΗΝΕΙΑ

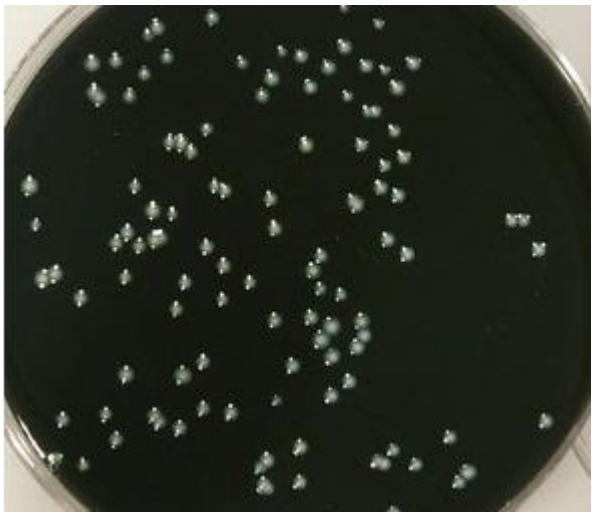
Εξετάστε τα τρυβλία την 3η, 5η, και 10η μέρα.
Η *Legionella pneumophila* εμφανίζει αποικίες μικρές, κυκλικές με σαφή όρια, γκρίζες, γυαλιστερές ή σαν τριμμένο γυαλί..

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η τελική ταυτοποίηση πρέπει να γίνεται με βιοχημικούς και ορολογικούς ελέγχους. (π.χ., δοκιμή συγκόλλησης **Microgen® Legionella Latex κωδικός: M45CE**) και μπορεί να εκτελούνται απευθείας από τις ύποπτες αποικίες.

ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΟΙΟΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ

Μικρόβιο	ATCC	Ανάπτυξη	Αποικίες
Legionella pneumophila	33152	Καλή	Μικρές, κυκλικές με σαφή όρια, γκρίζες - μπλε, γυαλιστερές ή σαν τριμμένο γυαλί.
Escherichia coli	25922	Μέτρια	
Candida albicans	10231	Μέτρια	



Legionella pneumophila

ΑΠΟΡΡΙΨΗ ΤΟΥ ΥΛΙΚΟΥ ΣΤΑ ΑΠΟΒΛΗΤΑ

Τα υλικά που δεν παρουσιάζουν καμία ανάπτυξη μπορεί να θεωρηθούν ως μη επικίνδυνα απόβλητα και να απορρίπτονται ανάλογα.
Τα υλικά που παρουσιάζουν ανάπτυξη αποικιών πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τις οδηγίες για μολυσματικά ή δυνητικός μολυσματικά απόβλητα.
Το εργαστήριο είναι υπεύθυνο για τη σωστή διαχείριση των μολυσματικών αποβλήτων σύμφωνα με τη φύση και το βαθμό επικινδυνότητάς τους και πρέπει να τα διαχειρίζεται και να τα απορρίπτει (ή να αναθέτει τη διαχείριση και απόρριψή τους) σύμφωνα με τους εκάστοτε ισχύοντες κανονισμούς.

ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ

LEGIONELLA AGAR (BCYE)

ΕΙΔΟΣ	ΚΩΔΙΚΟΣ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	ΦΥΛΑΞΗ	ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ
Τρυβλίο 9cm	010055	10 τεμάχια	2 – 8 °C	3 μήνες

Η εταιρεία Bioprepare έχει πιστοποιηθεί σύμφωνα με τα πρότυπα: EN ISO 9001:2015 / ΕΛΟΤ EN ISO 13485:2016 ΔΥ8δ/1348/2004.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Feeley, J.C., Gibson, R.J. *et al.* (1979). *Journal of Clinical Microbiology* **10**: 437-441
2. Pesculle, A.H., Feeley, J.C. *et al.* (1980). *Journal of Infectious Disease* **141**: 727-732
3. Edelstein, P.H. (1982). *Journal of Clinical Microbiology* **14**: 298-303
4. International Standard. ISO 11731:1998(E). Water Quality – Detection & Enumeration of *Legionella*.

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΚΑΤΑΣΚΕΥΑΣΤΗ IN VITRO

Γ. ΠΑΠΑΝΙΚΟΛΑΟΥ & ΣΙΑ Ε.Ε.
ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ
Ποταμού 5 ΒΙΟ ΠΑ ΚΕΡΑΤΕΑΣ - ΑΤΤΙΚΗ ΤΚ 19001
Τ.Θ. 4893 - Τηλ.: 2299 0 66113 Φαξ: 2299 0 66112.
E-mail: bioprep1@otenet.gr www.bioprepare.gr