

**Методика проведения лабораторных исследований объектов окружающей среды по выявлению в них бактерий *Legionella pneumophila***

**КАРПОВА Т.И.**

Научно-исследовательский институт  
эпидемиологии и микробиологии  
им.Н.Ф.Гамалеи Минздрава России

*Компоненты основы среды  
БУДРАГ ( ВСУЕ ) (на 1 литр):*

- Дрожжевой экстракт – 10,0 г
- Агар - 13,0 г
- Активированный уголь – 2,0 г
  
- $\alpha$ -кетоглутаровая кислота – 1,0 г
- ACES-буфер, рН 6,9 – 10 г
- 1 М раствор КОН – 40 мл
- глицин – 3 г

*Компоненты ростовой добавки (на 1 литр):*

L-цистеин – 0,4 г

Пирофосфат железа растворимый - 0,25 г

*Компоненты селективной добавки (на 1 литр):*

Полимиксин В – 80 000 ед.

Ванкомицин - 5 мг

GVPC

Циклогексимид – 80 мг

Цефамандол - 4 000 ед.

Полимиксин В – 80 000 ед.

ВМРА

Анизомидин – 80 мг

**1. *Селективная среда –***

( для выделения легионелл)

среда БУДРАГ с селективной и ростовой добавками

**2. *Контрольная среда***

( не поддерживающая рост легионелл) -

среда БУДРАГ без добавления селективной и ростовой добавки.

**3. Для пересева колоний легионелл и**

**дальнейшего культивирования -**

среда БУДРАГ ( ВСУЕ ) с ростовой, но без селективной добавки.

## Приготовление кислотного буфера

3,9 мл      25 мл  
(0,4М HCl    0,4М KCl) pH 2,2

(довести с помощью 1М КОН)

**0,4М HCl**      14,4 г/л      или      0,14 г на 10мл

**0,4М KCl**      29,6 г/л      или      0,74 г на 25мл

**1М КОН**      56 г/л      или      5,6 г на 100мл

Исследуемый образец  
(вода объемом 0,5-1л)

Мембранная фильтрация

Смыв с фильтра

Ресуспендирование осадка в 2 - 3 мл  
дистил. воды

0,2 мл

0,1 мл

0,1 мл

Обработка  
кислотным буфером

Тепловая обработка  
(50 °С, 30 мин)



БУДРАГ с ростовой и селективной добавкой

37 °С,  
до 10  
дней,  
2,5%  
CO<sub>2</sub>

Отбор подозрительных колоний



Рисунок 1Б. Схема выделения *Legionella* spp. из объектов внешней среды: идентификация подозрительных колоний.

## *Определение количества легионелл в исследуемом материале*

Для расчета используют следующую формулу:

$$X = \frac{a \times b}{c} \times \frac{1}{s} \quad \text{где}$$

X - количество легионелл на литр в исследуемой пробе,

a - количество легионелл, выросших на чашке,

b - объем концентрата пробы (по завершении этапов фильтрации и центрифугирования) в мл,

c - объем, высеянный на чашку, в мл,

s - объем исходной пробы в литрах.

## Оформление и выдача результатов

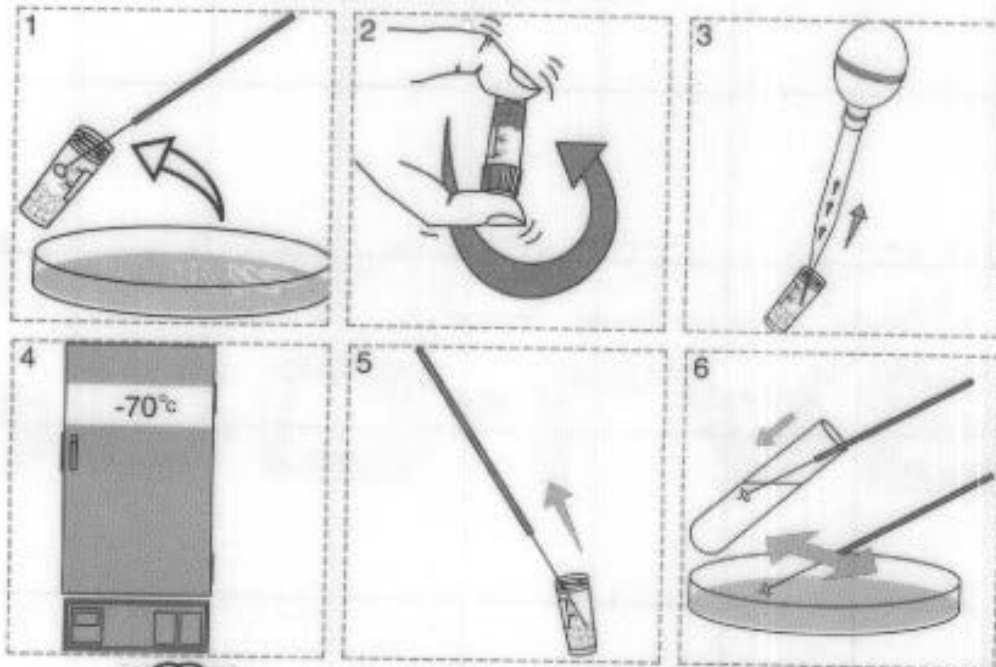
- Если легионеллы не выявлены в исследуемой пробе:  
*Legionella pneumophila* не обнаружены.
- При выявлении *Legionella spp.*:  
в исследуемой пробе выявлены *Legionella spp.*;  
*Legionella pneumophila* не обнаружены.
- При выявлении *Legionella pneumophila*:  
в исследуемой пробе выявлены *Legionella pneumophila*  
в установленном количестве бактерий (геномных копий) на литр.
- При исследовании пробы биопленки:  
в исследуемой пробе выявлены *Legionella spp.* или  
*Legionella pneumophila*.

**Рекомендуемые значения для оценки уровня контаминации *Legionella pneumophila* различных объектов, превышение которых представляет эпидемиологическую опасность.**

- В системе охлаждения промышленных предприятий и кондиционирования воздуха (cooling towers) -  $1 \times 10^4$  м.к. на литр
- В системах водоснабжения -  $1 \times 10^3$  м.к. на литр
- В джакузи массового назначения -  $1 \times 10$  м.к. на литр
- В системах горячего водоснабжения ЛПУ в отделениях групп риска (трансплантации, онкологии, хирургии реанимации, интенсивной терапии и т.д.) и учреждений социального обслуживания граждан пожилого возраста и инвалидов - 0

PRO-LAB  
DIAGNOSTICS

## Microbank™



PRO-LAB  
DIAGNOSTICS

## Варианты приобретения расходных материалов для выявления и идентификации легионелл.

№ п/п	Наименование организации	Продукция	Каталожн. номер	Телефоны
1.	ООО «БиоВитрум»	Основа среды для легионелл, 500г; Ростовая добавка, 10 флак.; Селективная добавка GVPC, 10 флак. ; <i>Диагностический набор (латексный) для легионелл</i>	CM0655B SR0110C SR0152E DR 800M	8(495) 787-40-46
2.	ООО «АНАЛИТ- УНИВЕРСАЛ»	АЦЭС буфер, 250г; Пробирки для хранения культуры МИКРОБАНК;	00115226 PL170/M	647-02-46
3.	ООО «Био-Рад Лаборатории»	Латексный набор для идентификации	62790	721-14-04
4.	ООО «МашХимКонсалт»	Фильтры мембранные поликарбонатные, 0,4мкм, 47мм, 100шт.	НТТР04700	8(495) 728-41-92
5.	ООО «МИЛЛАБ»	Фильтры мембранные поликарбонатные, 0,4мкм, 47мм, 100шт.	НТТР04700	8(495) 933-71-47
6.	ЗАО «БИОГРАД»	Экспресс-тест BinaxNOW Legionella (выявление антигена в моче)		(812) 325-21-70