

Legionella BCYE + AB Agar

Selective medium for detection and enumeration of *Legionella* spp, according to ISO 11731.

TYPICAL FORMULA	(g/l)
Yeast Extract	10.0
Activated Charcoal	2.0
ACES Buffer	10.0
Potassium Hydroxide	2.8
α -Ketoglutarate	1.0
L-Cystine	0.4
Ferric Pyrophosphate	0.25
Agar	12.0
Polymyxin B Sulfate	80 000 IU
Sodium Cefazolin	0.009
Pimaricin	0.07
Final pH 6.8 \pm 0.2	

DESCRIPTION

Legionella BCYE + AB Agar is a medium used for the selective isolation and numeration of *Legionella* spp from water samples and water related matrices.

This medium complies with ISO 11731:2017.

PRINCIPLE

Yeast extract provides amino acids, nitrogen, carbon, vitamins and minerals. Activated charcoal decomposes hydrogen peroxide, a metabolic product toxic to *Legionella* spp, and may also collect carbon dioxide and modify surface tension. ACES buffer (N-2-acetamido-2-aminoethane sulfonic acid) and potassium hydroxide maintain the proper pH for optimal growth. Alpha-ketoglutarate, cysteine and ferric pyrophosphate are incorporated to satisfy the specific nutritional requirements of *Legionella* species. Agar is the solidifying agent. Polymyxin B and cefazolin are selective agents against contaminating bacteria while pimaricin (natamycin) is included as antifungal agent.

TECHNIQUE

Membrane filtration is recommended as concentration technique when the number of legionellae in the water sample is unknown or not greater than 10⁴ CFU per litre. Direct plating of the unconcentrated sample is carried out if a higher concentration of *Legionella* spp is expected. Highly contaminated samples should be diluted and direct plating used before and after the pre-treatment with heat or acid solution.

Legionella BCYE + AB Agar is used in conjunction with Legionella BCYE Agar (ref. 10051), which has the same formulation without antibiotics. **Note:** Both these two media are inoculated with samples with a low concentration of contaminating organisms; samples containing a high or extremely high concentration of interfering microorganisms should be tested by using highly selective culture media such as Legionella GVPC Agar (ref. 10128) and Legionella MWY Agar (ref. 10127).

Incubate the inoculated plates at 36 \pm 2°C for 7 to 10 days in humidified atmosphere (air with 2.5% CO₂ can be beneficial for the growth of some Legionella but is not essential).

INTERPRETATION OF RESULTS

Examine the plates either on day 2, 3, 4 or 5 for monitoring overgrowth of contaminant flora. At the end of the incubation period observe growth and fluorescence under long-wave UV light.

Colonies of *Legionella* are often white-grey but can also appear in other colours. They are smooth with an entire edge and exhibit a characteristic ground-glass appearance. Under UV light colonies usually autofluoresce brilliant white.

For confirmation, subculture from the plate(s) showing the highest counts of presumptive colonies of *Legionella* per water volume onto plates of Legionella BCYE Agar and Legionella BCYE Agar w/o cysteine (ref. 10412). Regard as *Legionella* those colonies which grow on Legionella BCYE Agar but fail to grow on Legionella BCYE Agar w/o Cysteine.

STORAGE AND TRANSPORT CONDITIONS

2-8°C away from light, until the expiry date on the label. However, our stability studies have shown that the transport at 18-25°C for 4 days, or at 35-39°C for 48 hours, does not alter in any way the performance of the product. Eliminate if signs of deterioration or contamination are evident.

WARNING AND PRECAUTIONS

The product does not contain hazardous substances in concentrations exceeding the limits set by current legislation and therefore is not classified as dangerous. It is nevertheless recommended to consult the safety data sheet for its correct use. The product is designed for *In vitro* diagnostic use and must be used only by properly trained operators.

DISPOSAL OF WASTE

Disposal of waste must be carried out according to the national and local regulations in force.

REFERENCES

1. ISO 11731:2017. Water quality – Enumeration of *Legionella*.
2. EN ISO 11133:2014. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
3. Clesceri L.S., A.E. Greenberg and A.D. Eaton (1998) Standard methods for the examination of water and wastewater, 20th ed. American Public Health Association (APHA), Washington, D.C.
4. 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.



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY

Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 Website: www.liofilchem.net E-mail: liofilchem@liofilchem.net



PRODUCT SPECIFICATIONS

NAME

Legionella BCYE + AB Agar

PRESENTATION

Ready to use plates (90 mm) containing 22±1 ml of medium

STORAGE

2-8°C

PACKAGING

Ref.	Content	Packaging
10448	20 plates	<ul style="list-style-type: none"> • 10 plates in thermally soldered film • 2 x 10 plates in cardboard box
10448*	100 plates	<ul style="list-style-type: none"> • 10 plates in thermally soldered film • 10 x 10 plates in cardboard box

pH OF THE MEDIUM

6.8 ± 0.2

USE

Legionella BCYE + AB Agar is a medium formulated according to ISO 11731 and used for the isolation of *Legionella* species from clinical specimens and environmental samples

TECHNIQUE

Refer to technical sheet of the product

APPEARANCE OF THE MEDIUM

Black, opaque

SHELF LIFE

6 months

QUALITY CONTROL

1. Control of general characteristics, label and print
2. Sterility control
7 days at 22 ± 2°C, in aerobiosis
7 days at 35 ± 2°C, in aerobiosis
3. Microbiological control
Inoculum for productivity: 50-100 CFU
Incubation Conditions: 2-5 days at 36 ± 2°C

Microorganism

Legionella pneumophila

WDCM 00107

Growth

Good

Specification











White-grey-blue-purple colonies with entire edge and ground-glass appearance

Escherichia coli

WDCM 00013

Totally or partially inhibited

TABLE OF SYMBOLS

 LOT	Batch code	 IVD	<i>In vitro</i> Diagnostic Medical Device		Manufacturer		Use by		Fragile, handle with care
 REF	Catalogue number		Temperature limitation		Contains sufficient for <n> tests		Caution, consult instructions for use		Do not reuse



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY

Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 Website: www.liofilchem.net E-mail: liofilchem@liofilchem.net



Legionella BCYE + AB Agar

Terreno selettivo per la ricerca ed il conteggio di *Legionella* spp, secondo ISO 11731.

FORMULA TIPICA	(g/l)
Estratto di Lievito	10.0
Carbone Attivo	2.0
Tampone ACES	10.0
Potassio Idrossido	2.8
α -Chetoglutarato	1.0
L-Cistina	0.4
Pirofosfato Ferrico	0.25
Agar	12.0
Polimixina B Solfato	80 000 IU
Cefazolina Sodica	0.009
Pimaricina	0.07
pH Finale 6.8 ± 0.2	

DESCRIZIONE

Legionella BCYE Agar è un terreno utilizzato per l'isolamento selettivo ed il conteggio di *Legionella* spp nelle acque e matrici associate. Questo terreno è conforme con ISO 11731:2017.

PRINCIPIO

L'estratto di lievito fornisce amminoacidi, azoto, carbonio, vitamine e minerali. Il carbone attivo decompone il perossido di idrogeno, un prodotto del metabolismo che risulta tossico per *Legionella* spp ed è anche in grado di assorbire l'anidride carbonica e modificare la tensione superficiale. Il tampone ACES (acido sulfonico N-2-acetamino-2-aminoetano) ed l'idrossido di potassio mantengono il pH appropriato per una crescita ottimale. Alfa-chetoglutarato, cistina e pirofosfato ferrico sono incorporati per soddisfare i requisiti nutrizionali specifici per le specie di *Legionella*. L'agar è l'agente solidificante. Polimixina B e cefazolina sono agenti selettivi contro i batteri contaminanti mentre la pimaricina (natamicina) viene inclusa come agente antimicotico.

TECNICA

Si raccomanda la filtrazione su membrana come tecnica per concentrare il campione quando il numero di legionelle è sconosciuto o non superiore a 10^4 UFC per litro. Se invece si presume che la concentrazione di *Legionella* spp sia più alta, le piastre vengono inoculate strisciando direttamente il campione sulla superficie dell'agar. I campioni altamente contaminati dovrebbero essere diluiti e seminati su piastra prima e dopo il pretrattamento con calore o soluzione acida.

Legionella BCYE + AB è utilizzata in associazione con il terreno Legionella BCYE Agar (ref. 10051) che ha la stessa composizione ma senza antibiotici. **Nota:** Entrambi i terreni sono inoculati con campioni poco contaminati; i campioni contenenti concentrazioni elevate o estremamente alte di microrganismi interferenti dovrebbero essere testati utilizzando terreni di coltura altamente selettivi come Legionella GVPC Agar (ref. 10128) e Legionella MWY Agar (ref. 10127).

Incubare le piastre a $36 \pm 2^\circ\text{C}$ per 7-10 giorni in atmosfera umidificata (un atmosfera aerobica arricchita con 2.5% CO_2 può favorire il recupero di alcune Legionelle ma non è essenziale).

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Esaminare le piastre nei giorni 2, 3, 4 o 5 per monitorare l'eccessiva crescita della flora contaminate. Alla fine del periodo di incubazione osservare la crescita e la fluorescenza delle colonie esposte a luce UV.

Le colonie di *Legionella* sono spesso bianche-grigie, ma possono apparire anche di altri colori. Sono lisce con bordi definiti e mostrano il caratteristico aspetto di vetro smerigliato. Sotto la luce UV le colonie di solito esibiscono fluorescenza bianca brillante.

Per la conferma, subcoltivare dalle piastre con il numero maggiore di colonie di *Legionella* per volume d'acqua su piastre di Legionella BCYE Agar e Legionella BCYE Agar w/o cysteine (ref. 10412). Considerare come *Legionella* quelle colonie formatesi su Legionella BCYE Agar e che invece non crescono su Legionella BCYE Agar w/o Cysteine.

CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE E TRASPORTO

Il prodotto deve essere conservato a $2-8^\circ\text{C}$ al riparo dalla luce, fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Tuttavia i nostri studi di stabilità hanno dimostrato che il trasporto a $18-25^\circ\text{C}$ per 4 giorni, oppure a $35-39^\circ\text{C}$ per 48 ore, non altera in nessun modo l'efficienza del prodotto. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento o contaminazione.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Il prodotto non contiene sostanze nocive in concentrazioni superiori ai limiti fissati dalla normativa vigente, perciò non è classificato come pericoloso; per il suo impiego si consiglia comunque di consultare la scheda di sicurezza. Il prodotto è destinato esclusivamente ad uso diagnostico *in vitro* e deve essere utilizzato da parte di personale qualificato.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Lo smaltimento del prodotto deve essere effettuato secondo le vigenti regolamentazioni nazionali e locali.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- ISO 11731:2017. Water quality – Enumeration of *Legionella*.
- EN ISO 11133:2014. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
- Clesceri L.S., A.E. Greenberg and A.D. Eaton (1998) Standard methods for the examination of water and wastewater, 20th ed. American Public Health Association (APHA), Washington, D.C.
- 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.



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY

Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 Website: www.liofilchem.net E-mail: liofilchem@liofilchem.net



SPECIFICHE DI PRODOTTO

DENOMINAZIONE

Legionella BCYE + AB Agar

PRESENTAZIONE

Piastre pronte da 90 mm contenenti 22±1 ml di terreno

CONSERVAZIONE

2-8°C

CONFEZIONAMENTO

Ref.	Contenuto	Confezionamento
10448	20 piastre	<ul style="list-style-type: none"> • 10 piastre in film bisaldante, saldato termicamente • 2 x 10 piastre in scatola di cartone
10448*	100 piastre	<ul style="list-style-type: none"> • 10 piastre in film bisaldante, saldato termicamente • 10 x 10 piastre in scatola di cartone

pH DEL TERRENO

6.8 ± 0.2

IMPIEGO

Legionella BCYE + AB Agar è un terreno formulato secondo ISO 11731 ed utilizzato per l'isolamento di *Legionella* specie da campioni clinici ed ambientali

TECNICA

Fare riferimento alla scheda tecnica del prodotto

ASPETTO DEL TERRENO

Nero, opaco

VALIDITÀ DALLA DATA DI PRODUZIONE











6 mesi

CONTROLLO DI QUALITÀ

1. Controllo caratteristiche generali, etichettatura e stampa
2. Controllo sterilità
 7 giorni a 22 ± 2°C, in aerobiosi
 7 giorni a 35 ± 2°C, in aerobiosi
3. Controllo microbiologico
 Dimensione dell'inoculo per produttività: 50-100 UFC
 Condizioni di incubazione: 2-5 giorni a 36 ± 2°C

Microrganismo	WDCM	Crescita	Specifiche
<i>Legionella pneumophila</i>	WDCM 00107	Buona	Colonie bianche-grigie-blu-porpora con bordo intero ed aspetto di vetro smerigliato
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Totalmente o parzialmente inibita	---

TABELLA DEI SIMBOLI

 LOT Numero di lotto	 IVD Per uso diagnostico <i>in vitro</i>	 Fabbricante	 Data di scadenza	 Fragile, maneggiare con cura
 REF Numero di catalogo	 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> test	 Attenzione, consultare le istruzioni per l'uso	 Non riutilizzare



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY
 Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 Website: www.liofilchem.net E-mail: liofilchem@liofilchem.net

