

Legionella BCYE Agar w/o Cysteine

Medium for detection and enumeration of *Legionella* spp, according to ISO 11731 and ISO 11731-2.

TYPICAL FORMULA	(g/l)
Yeast Extract	10.0
Activated Charcoal	2.0
ACES Buffer	10.0
Potassium Hydroxide	2.8
α-Ketoglutarate	1.0
Ferric Pyrophosphate	0.25
Agar	12.0
Final pH 6.8 ± 0.2	

DESCRIPTION

Legionella BCYE Agar w/o Cysteine is a medium formulated according to ISO 11731 and ISO 11731-2 and used for the isolation of *Legionella* species from clinical specimens and environmental samples.

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, and ferric pyrophosphate are incorporated to satisfy the specific nutritional requirements of *Legionella* species which however absolutely need also cysteine to grow. Agar is the solidifying agent.

TECHNIQUE

Culture specimens from swab by rolling the swab over the agar surface to obtain isolated colonies.

According to ISO 11731, for confirmation of presumptive *Legionella* colonies, subculture typical colonies from Legionella Agar (GVPC) plates (ref. 10128) onto plates of Legionella BCYE Agar (ref. 10051) and Legionella BCYE Agar w/o cysteine.

Incubate plates at 36 ± 1°C for at least 2 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 for growth and fluorescence under long-wave UV light.

ISO 11731 and ISO 11731-2 recommend to regard as *Legionella* those colonies which grow on Legionella BCYE Agar but fail to grow on Legionella BCYE Agar w/o cysteine.

Colonies of *Legionella* are often white-grey-blue-purple in colour, but can be brown, pink, lime-green or deep-red. They are smooth with an entire edge and exhibit a characteristic ground-glass appearance. Under UV light colonies usually exhibit brilliant blue-white fluorescence. Colonies of *L. pneumophila* appear dull-green often tinged with yellow.

STORAGE

10-25°C away from light, until the expiry date on the label. 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

- 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.
- 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.
- ISO 11731 (1998) Water Quality – Detection and Enumeration of *Legionella*.
- ISO 11731-2 (2004) Water Quality – Detection and Enumeration of *Legionella*. – Direct membrane filtration method for waters with low bacterial count.



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 Agar w/o Cysteine

PRESENTATION

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

STORAGE

10-25°C

PACKAGING

Ref.	Content	Packaging
10412	20 plates	<ul style="list-style-type: none"> • 10 plates in thermally soldered film • 2 x 10 plates in cardboard box

pH OF THE MEDIUM

6.8 ± 0.2

USE

Legionella BCYE Agar w/o Cysteine is a medium formulated according to ISO 11731 and ISO 11731-2 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 ± 1°C, in aerobiosis
 - 7 days at 36 ± 1°C, in aerobiosis
3. Microbiological control
 - Inoculum for productivity: 50-100 CFU
 - Incubation Conditions: 2-5 days at 36 ± 2°C

Microorganism	Growth on Legionella BCYE Agar	Growth on Legionella BCYE Agar w/o Cysteine
<i>Legionella pneumophila</i> ATCC® 33152	Good	Inhibited
<i>Legionella bozemani</i> NCTC 11368	Good	Inhibited
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923	Good	Good
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Good	Good

TABLE OF SYMBOLS

LOT	Batch code	IVD	<i>In vitro Diagnostic Medical Device</i>		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 Agar w/o Cysteine

Terreno per la ricerca ed il conteggio di *Legionella* spp, secondo ISO 11731 ed ISO 111731-2.

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
Pirofosfato Ferrico	0.25
Agar	12.0
pH Finale 6.8 ± 0.2	

DESCRIZIONE

Legionella BCYE Agar w/o Cysteine è un terreno formulato secondo ISO 11731 ed ISO 111731-2 ed utilizzato per l'isolamento di Legionella specie da campioni clinici ed ambientali.

PRINCIPIO

L'estratto di lievito fornisce amminoacidi, azoto, carbonio, vitamine e minerali. Il carbone attivo decomponere 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) e l'idrossido di potassio mantengono il pH appropriato per una crescita ottimale. Alfa-chetoglutarato e pirofosfato ferrico sono incorporati per soddisfare i requisiti nutrizionali specifici per le specie di Legionella che comunque necessitano assolutamente di cistina per crescere. L'agar è l'agente solidificante.

TECNICA

Inoculare le piastre strisciando direttamente il tampone sulla superficie dell'agar per ottenere colonie isolate.

Secondo ISO 11731, per la conferma di colonie presunte di Legionella, subcoltivare le colonie tipiche cresciute su piastre di Legionella Agar (GVPC), ref. 10128, sia su Legionella BCYE Agar, ref. 10051 che su Legionella BCYE Agar w/o cysteine.

Incubare le piastre a 36 ± 1°C per almeno 2 giorni in atmosfera umidificata (un atmosfera aerobica arricchita con 2.5% CO₂ può favorire il recupero di alcune Legionelle ma non è essenziale)

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Esaminare la crescita e la fluorescenza delle colonie esposte a luce UV.

ISO 11731 ed ISO 11732-2 raccomandano di considerare come Legionella le colonie formatesi su Legionella BCYE Agar e che invece non crescono su Legionella BCYE Agar w/o cysteine.

Le colonie di Legionella sono spesso bianche-grigie-blu-porpora, ma possono apparire di colore marrone, rosa, verde-lime o rosso-intenso. Sono lisce con bordi definiti e mostrano il caratteristico aspetto di vetro smerigliato. Sotto la luce UV le colonie di solito esibiscono fluorescenza blu-bianca. Le colonie di *L. pneumophila* appaiono verde opaco spesso con sfumature gialle.

CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE

Il prodotto può essere conservato a 10-25°C al riparo dalla luce, fino alla data di scadenza indicata in etichetta. 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

1. 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.
2. 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.
3. ISO 11731 (1998) Water Quality – Detection and Enumeration of Legionella.
4. ISO 11731-2 (2004) Water Quality – Detection and Enumeration of Legionella. – Direct membrane filtration method for waters with low bacterial count.
5. ISO 11133 (2014) Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.



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 Agar w/o Cysteine

PRESENTAZIONE

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

CONSERVAZIONE

10-25°C

CONFEZIONAMENTO

Ref.	Contenuto	Confezionamento
10412	20 piastre	<ul style="list-style-type: none"> 10 piastre in film bisaldante, saldato termicamente 2 x 10 piastre in scatola di cartone

pH DEL TERRENO

6.8 ± 0.2

IMPIEGO

Legionella BCYE Agar w/o Cysteine è un terreno formulato secondo ISO 11731 ed ISO 11731-2 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

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

Microrganismo	Crescita su Legionella BCYE Agar	Crescita su Legionella BCYE Agar w/o Cysteine
<i>Legionella pneumophila</i> ATCC® 33152	Buona	Inibita
<i>Legionella bozemani</i> NCTC 11368	Buona	Inibita
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923	Buona	Buona
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Buona	Buona

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

