

**MODE D'EMPLOI****LEGIONELLA BCYE α -GROWTH SUPPLEMENT W/O CYSTEINE****Supplément d'enrichissement lyophilisé****1 - UTILISATION PREVUE**

Diagnostic *in vitro*. Mélange de facteurs de croissance dépourvus de L-cystéine à utiliser avec Legionella BCYE Agar Base pour la confirmation des colonies de *Legionella* isolées à partir de spécimens cliniques et d'échantillons d'eau.

2 - COMPOSITIONS - (CONTENU DU FLACON POUR 500 ML DE MILIEU)

ACES Buffer/Potassium hydroxide	6.4 g
α -ketoglutarate monopotassium salt	0.5 g
Ferric pyrophosphate	125.0 mg

3 - PRINCIPE DE LA METHODE ET EXPLICATION DE LA PROCEDURE

Legionella BCYE α -Growth Supplement w/o Cysteine est un mélange lyophilisé de facteurs de croissance, dépourvu de L-cystéine, à utiliser comme complément à la base de gélose BCYE (REF 401582) pour la confirmation des colonies de *Legionella* isolées à partir de spécimens cliniques et d'échantillons d'eau.

Le tampon ACES est utilisé pour la stabilisation du pH, l' α -cétoglutarate et le pyrophosphate ferrique stimulent la croissance des *Legionella*. La L-cystéine, est un acide aminé essentiel et une source d'énergie importante pour *Legionella* spp. et n'est pas incluse dans le supplément : la différenciation des colonies de *Legionella* est obtenue par leur incapacité à se développer sur le milieu sans L-cystéine.

4 - INSTRUCTIONS POUR LA PREPARATION DES MEDIAS

Reconstituer le contenu d'un flacon de BCYE α -Growth Supplement w/o Cysteine avec 50 mL d'eau purifiée stérile. Ajouter à 450 mL de base de gélose Legionella BCYE (REF 401582) autoclavée à 121°C pendant 15 minutes et refroidie à 47-50°C avec des précautions aseptiques. Bien mélanger et verser dans des boîtes de Pétri stériles.

5 - CARACTERISTIQUES PHYSIQUES

Aspect du supplément lyophilisé	taille moyenne, pastille rose
Aspect de la solution	jaune clair, opalescent

6 - MATÉRIAUX FOURNIS - EMBALLAGE

Produit	Type	REF	Pack
Legionella BCYE α -Growth Supplement w/o Cysteine	Supplément lyophilisé	423212	4 flacons, chacun pour 500 mL de milieu de culture

7 - MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

Legionella BCYE Agar Base (REF 401582), autoclave, incubateur et équipement de laboratoire nécessaires, flacons autoclavables, boucles et écouvillons stériles, réactifs pour le traitement des échantillons, milieux de culture auxiliaires et réactifs pour l'identification des colonies.

8 - SPECIMENS

Legionella BCYE Agar Base complétée par Legionella BCYE α -Growth Supplement w/o Cysteine, doit être inoculée avec des colonies cultivées sur des milieux d'isolement sélectifs ou non sélectifs pour la confirmation présumée de colonies de *Legionella*.

9 - PROCEDURE D'ESSAI

Laissez les plaques venir à température ambiante et sécher la surface du support.

Un premier critère pour différencier les colonies de *Legionella* est leur incapacité à se développer, à de rares exceptions près (*L.oakridgensis*, *L.jordanis*, et *L.nagasakiensis*, *L.spiritensis*)^{1,2,3}, sur un milieu dépourvu de L-cystéine.

Lorsqu'il n'y a qu'un seul type de colonie, prélever trois colonies présumées ; si plusieurs types morphologiques différents de colonies présumées de *Legionella* se développent sur la plaque, prélever au moins une colonie de chaque type.²

Subculture sur une plaque de BCYE avec cystéine et une plaque de BCYE sans cystéine.

Veillez à ne pas emporter de milieu de culture avec la colonie et inoculez d'abord une plaque de Legionella Agar sans cystéine.

Incuber à 36 $\pm$ 2°C pendant 2 à 5 jours.²

10 - LECTURE ET INTERPRETATION

Après incubation, observer la croissance bactérienne sur les deux plaques inoculées. Considérer comme *Legionella* les colonies qui se développent sur la plaque de BCYE avec cystéine mais ne se développent pas sur la plaque de BCYE sans cystéine.

L'identification présomptive doit être complétée par une coloration de Gram préparée à partir d'une gélose contenant de la cystéine uniquement : Les cellules de *Legionella* sont des bâtonnets fins Gram-négatifs peu ou pas colorés, qui peuvent être filamenteux dans les cultures anciennes.²

11 - CONTROLE DE LA QUALITE DE L'UTILISATEUR

Tous les lots fabriqués du produit sont libérés pour la vente après que le Contrôle Qualité ait été effectué pour vérifier la conformité aux spécifications. Cependant, il est de la responsabilité de l'utilisateur final d'effectuer les tests de contrôle de la qualité conformément aux réglementations locales applicables, en accord avec les exigences d'accréditation et l'expérience du laboratoire. Consultez la documentation citée pour connaître les détails des procédures de contrôle de la qualité.^{2,4,5}





12 - CARACTERISTIQUES DES PERFORMANCES

Avant la mise en vente, un échantillon représentatif de tous les lots de Legionella BCYE α -Growth Supplement w/o Cysteine utilisés pour la supplémentation de la Legionella Agar Base REF 401582 déshydratée est testé pour les propriétés de productivité/sélectivité en comparant les résultats avec un lot précédemment approuvé.

La propriété du milieu à ne pas permettre la croissance de *Legionella* spp. est testée en inoculant les souches suivantes : *L.pneumophila* ATCC 33152, *L.pneumophila*, isolat clinique et *L.anisa* ATCC 35292. La propriété du milieu à permettre la croissance de souches non-Legionella est testée avec *E.coli* ATCC 25922 et *S.aureus* ATCC 25923. Après incubation à 35-37°C pendant 48-72 heures, les souches non-Legionella montrent une bonne croissance alors que les souches *Legionella* ne se développent pas.

13 - LIMITES DE LA MÉTHODE

- Les plaques présentant une croissance caractéristique et des colonies présumées être des *Legionella* doivent subir des tests de confirmation à l'aide de techniques biochimiques, immunologiques, moléculaires ou de spectrométrie de masse. Le cas échéant, effectuer des tests de sensibilité aux antimicrobiens.
- En microbiologie clinique, le diagnostic de la légionellose doit être basé sur une approche interdisciplinaire qui inclut les résultats radiologiques, les résultats culturels, la détermination de l'antigène urinaire. Le supplément BCYE et la base de milieu sont destinés à aider au diagnostic de l'infection : l'interprétation des résultats doit être faite en tenant compte de l'histoire clinique du patient, de l'origine de l'échantillon et des résultats des tests microscopiques et/ou autres tests de diagnostic.

14 - PRÉCAUTIONS ET AVERTISSEMENTS

- BCYE Supplement w/o Cysteine est un diagnostic qualitatif *in vitro*, destiné à un usage professionnel uniquement ; il doit être utilisé par un personnel de laboratoire adéquatement formé et qualifié, en respectant les précautions approuvées en matière de risques biologiques et les techniques aseptiques.
- BCYE Supplement w/o Cysteine est classé comme dangereux selon la législation européenne en vigueur ; consultez la fiche de données de sécurité avant utilisation.
- Le supplément et la base de milieu doivent être utilisés en association selon les instructions décrites ci-dessus. Appliquer les bonnes pratiques de fabrication dans le processus de production des milieux préparés.
- Le BCYE Supplement w/o Cysteine est stérilisé par filtration sur membrane.
- Faites attention lorsque vous ouvrez l'anneau métallique pour éviter de vous blesser.
- Tous les échantillons de laboratoire doivent être considérés comme infectieux.
- La zone de laboratoire doit être contrôlée pour éviter les contaminants tels que la poudre de milieu et les suppléments ou les agents microbiens.
- Stérilisez tous les déchets à risque biologique avant de les éliminer. Éliminez les suppléments non utilisés et les milieux stérilisés inoculés avec des échantillons ou des souches microbiennes conformément à la législation locale en vigueur.
- N'utilisez pas le BCYE Supplement w/o Cysteine comme ingrédients actifs de préparations pharmaceutiques ou comme matériaux de production destinés à la consommation humaine et animale.
- Les certificats d'analyse et les fiches de données de sécurité des produits sont disponibles sur le site www.biolifeitaliana.it.
- Notifier à Biolife Italiana Srl (complaint@biolifeitaliana.it) et aux autorités compétentes tout incident grave survenant en rapport avec l'utilisation du diagnostic *in vitro*.
- Les informations fournies dans ce document ont été définies au mieux de nos connaissances et de nos capacités et représentent une ligne directrice pour l'utilisation correcte du produit, mais sans obligation ni responsabilité. Dans tous les cas, les lois, réglementations et procédures standard locales existantes doivent être respectées pour l'examen des échantillons prélevés dans les districts biologiques humains et animaux, pour les échantillons environnementaux et pour les produits destinés à la consommation humaine ou animale. Nos informations ne dispensent pas nos clients de leur responsabilité de vérifier l'adéquation de notre produit à l'usage auquel il est destiné.

15 - CONDITIONS DE STOCKAGE ET DUREE DE CONSERVATION

Dès réception, conservez le produit dans son emballage d'origine à une température de 2 à 8°C, à l'abri de la lumière directe. S'il est correctement conservé, le produit peut être utilisé jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette ; ne pas utiliser au-delà de cette date. Une fois que le flacon a été ouvert et que le produit lyophilisé a été reconstitué, la solution obtenue doit être utilisée immédiatement. Avant utilisation, examiner le produit lyophilisé et reconstitué et le jeter s'il présente des signes évidents de détérioration (par exemple, contamination, couleur atypique ou autres caractéristiques anormales).

L'utilisateur est responsable des processus de fabrication et de contrôle de la qualité des milieux préparés et de la validation de leur durée de conservation, selon le type (plaques/tubes) et les conditions de stockage appliquées (température et emballage).

16 - RÉFÉRENCES

- Mercante JW, Winchell JM. Current and Emerging Legionella Diagnostics for Laboratory and Outbreak Investigations. Clin Microbiol Rev. 2015; 28:95-147
- ISO 11731:2017 Water quality — Enumeration of Legionella
- Public Health England. UK Standards for Microbiology Investigations. Identification of Legionella species. ID18, Issue no: 3, Issue date: 14.04.15
- Feeley JC, Gibson RJ, Gorman GW, Langford NC, Rasheed JK, Mackel DC, Baine WB, Charcoal-yeast extract agar: primary isolation medium for Legionella pneumophila, J Clin Microbiol 1979; 10:437-441.
- Edelstein P.H., Improved semiselective medium for isolation of Legionella pneumophila from contaminated clinical and environmental specimens. J Clin Microbiol 1981; 14:298-303



**423212 LEGIONELLA BCYE A-SUPPLEMENT DE CROISSANCE SANS CYSTEINE****SDS**

Règlement (UE) 2020/878

Contient : HYDROXYDE DE POTASSIUM**Classification**

Substance ou mélange corrosif pour les métaux, catégorie 1

Toxicité aiguë, catégorie 4

Corrosion cutanée, catégorie 1A

Lésions oculaires graves, catégorie 1

H290

Peut être corrosif pour les métaux.

H302

Nocif en cas d'ingestion.

H314

Provoque de graves brûlures de la peau et des lésions oculaires.

H318

Provoque des lésions oculaires graves.

Étiquetage

Pictogramme



Mot de signalisation

Avertissement

Mention(s) de danger

H290

Peut être corrosif pour les métaux.

H302

Nocif en cas d'ingestion.

H314

Provoque des brûlures cutanées graves et des lésions oculaires.

Mises en garde :

P260 Ne pas respirer les poussières / fumées / gaz / brouillards / vapeurs / pulvérisations.

P305+P351+P338 EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact, si elles sont présentes et faciles à faire.

Continuez à rincer.

P303+P361+P353 EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : Enlever immédiatement tous les vêtements contaminés.

Rincer la peau à l'eau [ou prendre une douche].

P280

Porter des gants de protection / des vêtements de protection / une protection oculaire / une protection faciale.

P310

Appelez immédiatement un CENTRE ANTIPOISON / un médecin / . . .

P264

Laver soigneusement après avoir manipulé.

TABLE DES SYMBOLES APPLICABLES

REF ou REF Numéro de catalogue	LOT Code du lot	IVD Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>	Fabricant	Utiliser avant
Limitation de la température	Contenu suffisant pour <n>tests	Consulter le mode d'emploi	Stocker à l'abri de la lumière directe	Fragile, à manipuler avec soin

HISTORIQUE DES RÉVISIONS

Version	Description des changements	Date
Révision 2	Mise en page et contenu actualisés	2022/01
Révision 3	Suppression de la classification obsolète	04/2023

Remarque : les modifications mineures d'ordre typographique, grammatical et de formatage ne sont pas incluses dans l'historique des révisions.

