



BD Legionella Agar with Vancomycin and Colistin

APPLICATION

La **BD Legionella Agar with Vancomycin and Colistin** (gélose de *Legionella* avec vancomycine et colistine) est un milieu sélectif servant à l'isolement des espèces de *Legionella* à partir d'échantillons cliniques.

PRINCIPES ET EXPLICATION DE LA METHODE

Méthode microbiologique.

Depuis la description initiale de la *Legionella pneumophila* comme agent responsable de la maladie du légionnaire, un grand nombre d'espèces ont été décrites dont certaines sont également associées à la maladie humaine.^{1,2} Bien que la *Legionella* ne soit pas extrêmement exigeante, sa croissance est conditionnée par la présence de cystéine et d'ions ferriques.²⁻⁴ De plus, comme le microorganisme est relativement sensible aux radicaux d'oxygène, sa croissance est plus importante dans les milieux contenant du charbon que dans la gélose chocolat. La gélose BCYE- α (Extrait de levure de charbon tamponnée et α -cétoglutarate) décrite par Edelstein constitue la base la plus couramment utilisée pour les milieux de culture de *Legionella*.⁴ Plusieurs suppléments ont été décrits pour servir d'inhibiteurs des flores associées.^{2,5,6}

L'extrait de levure présent dans la **BD Legionella Agar with Vancomycin and Colistin** constitue une source de nutriments. La L-cystéine, l'alpha-cétoglutarate et le pyrophosphate ferrique répondent aux besoins nutritionnels spécifiques de *Legionella*. ACES [N-(2-acetamido)-2-aminoethanesulfonic acid] est un tampon. La vancomycine inhibe les microorganismes Gram positifs et la colistine les bactéries Gram négatives sensibles comme *Enterobacteriaceae*, sauf *Proteus*.

REACTIFS

BD Legionella Agar with Vancomycin and Colistin

Formule* par litre d'eau purifiée

Extrait de levure	10,0 g
Pyrophosphate ferrique	0,25
Tampon ACES	10,0
Charbon de bois activé	2,0
Alpha-cétoglutarate	1,0
Gélose	15,0
HCl de L-cystéine	0,4
Vancomycine	0,002 g
Colistine	0,015 g

pH 6,9 \pm 0,2

*Ajustée et/ou complémentée en fonction des critères de performances imposés.

PRECAUTIONS

IVD . A usage professionnel uniquement.

Ne pas utiliser les boîtes si elles présentent des signes de contamination microbienne, décoloration ou dessiccation, ou d'autres signes de détérioration.

Consulter le document « **MODE D'EMPLOI GENERAL** » pour connaître les procédures de manipulation aseptique, les risques biologiques, ainsi que les méthodes d'élimination des produits utilisés.

STOCKAGE ET DUREE DE CONSERVATION

Dès réception, conserver les boîtes de Pétri dans l'obscurité entre 2 et 8 °C, dans leur emballage d'origine, jusqu'au moment de leur utilisation. Ne pas congeler ni surchauffer. Les boîtes peuvent être ensemencées jusqu'à leur date de péremption (voir étiquette sur l'emballage) et incubées pendant le délai d'incubation recommandé.

Des boîtes provenant d'une pile ouverte de 10 boîtes sont utilisables pour une semaine lorsqu'elles sont conservées entre +2 et +8 °C dans un endroit propre.

CONTROLE DE QUALITE PAR L'UTILISATEUR

Ensemencer les échantillons représentatifs avec les souches ci-dessous (pour plus d'informations, voir le document « **MODE D'EMPLOI GENERAL** »). Incuber pendant 3 à 4 jours en aérobic dans une chambre humide, à une température comprise entre 35 et 37 °C.

Souches	Croissance
<i>Legionella pneumophila</i> ATCC 33152	Croissance bonne à importante, colonies de couleur bleuâtre-grise
<i>Legionella bozemanii</i> ATCC 33217	Croissance bonne à importante, colonies de couleur bleuâtre-grise
<i>Legionella micdadei</i> ATCC 33218	Croissance bonne à importante, colonies de couleur bleuâtre-grise
<i>Legionella anisa</i> DSM 17627	Growth satisfactory to excellent; bluish-gray colonies
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibition partielle à complète
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Inhibition partielle à complète
Non ensemencée	Noir brillant

METHODE

Matériaux fournis

BD Legionella Agar with Vancomycin and Colistin (boîtes de Pétri **Stacker** de 90 mm).
Produit soumis à contrôle microbiologique.

Matériaux non fournis

Milieux de culture auxiliaires, réactifs et matériel de laboratoire requis.

Types d'échantillons

Il s'agit d'un milieu partiellement sélectif utilisé pour l'isolement de *Legionella* à partir d'échantillons d'infections des voies respiratoires inférieures, notamment d'expectorations (voir également la rubrique « **CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE** »). Pour plus d'informations sur ces échantillons et sur leur prélèvement, consulter les documents cités en référence.^{2,6} Ce milieu peut également servir à mettre en évidence la présence de *Legionella* dans l'eau et à l'intérieur des réseaux d'alimentation en eau. Les écouvillonnages de douches et de robinets doivent être effectués après retrait de la pomme de douche ou de l'aérateur. Les échantillons recueillis sur les écouvillons peuvent être transportés dans une petite quantité d'eau du robinet stérilisée afin de prévenir leur dessèchement.^{2,6}

Mode opératoire du test

Tous les échantillons cliniques contenant une importante quantité de flores associées peuvent subir un premier traitement à la chaleur (bain-marie à 50 °C pendant 30 min) ou à l'acide (diluer l'échantillon au 1/10 avec un tampon de 0,2 M KCl/HCl pH 2,2 ; laisser incuber pendant 5 à 15 min à température ambiante, puis neutraliser la solution en amenant son pH à 7 avant de procéder à l'ensemencement), afin de favoriser la mise en évidence. Les échantillons cliniques peuvent également être homogénéisés par agitation dans un bouillon de Trypticase Soy Broth ou dans un autre liquide adapté, et doivent ensuite être striés sur le milieu. Avant leur mise en boîte de Pétri, les échantillons d'eau doivent être concentrés par centrifugation puis filtrés. Pour plus d'informations sur les procédures de prélèvement et de prétraitement, consulter les documents cités en référence.²

Ensemencer en stries l'échantillon sur le milieu, selon une technique d'isolement approuvée. Eviter tout dessèchement pendant la manipulation et la culture des échantillons. Incuber pendant 3 à 4 jours, voire jusqu'à 2 semaines, à l'air ambiant, dans une chambre humide à une température comprise entre 35 et 37 °C.

Résultats

Legionella spp. se présentent sous forme de colonies de toutes tailles, d'aspect brillant et souvent muqueux, incolores, bleuâtres ou rougeâtres dans des milieux à base de BCYE. Plusieurs *Legionella* spp. émettent une fluorescence primaire, mais ce n'est pas le cas de *L. pneumophila*. Confirmer le diagnostic à l'aide de méthodes de coloration et de tests sérologiques appropriés.²

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE

La **BD Legionella Agar with Vancomycin and Colistin** est l'une des formulations utilisées pour l'isolement de *Legionella* à partir d'échantillons d'infections des voies respiratoires inférieures et d'eau.^{2,5}

Ce milieu n'est que partiellement sélectif. Les échantillons ou l'eau contenant des flores contaminantes doivent subir un prétraitement visant à réduire la croissance excessive de champignons ou de bactéries.

Des tests de confirmation sont indispensables pour identifier le genre et les espèces. Des tests d'antigènes et d'anticorps visant à confirmer une infection par *Legionella* ont été décrits.^{2,6}

REFERENCES

1. McDade, J.E., C.C. Shepard, D.W. Fraser, T.R. Tsai, M.A. Redus, W.R. Dowdle, and the Laboratory Investigation Team. 1977. Legionnaires' disease: isolation of a bacterium and demonstration of its role in other respiratory disease. N. Engl. J. Med. 297:1197-1203.
2. Winn, W.C. 1995. *Legionella*, p. 533-544. In: P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
3. Feeley, J.C., G.W. Gorman, R.E. Weaver, D.C. Mackel, and H.W. Smith. 1978. Primary isolation media for Legionnaires' disease bacterium. J. Clin. Microbiol. 8:320-325.
4. Edelstein, P.H. 1981. Improved semiselective medium for isolation of *Legionella pneumophila* from potable water. J. Clin. Microbiol. 14: 298-303.
5. MacFaddin, J. D. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1, p. 275-284. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
6. Stout, J.E., J.D. Rihs, and V.L. Yu. 2003. *Legionella*. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

CONDITIONNEMENT

BD Legionella Agar with Vancomycin and Colistin

N° réf. 254414 Milieux en boîtes de Pétri prêts à l'emploi, 20 unités
N° réf. 254543 Milieux en boîtes de Pétri prêts à l'emploi, 120 unités

INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES

Pour plus d'informations, contacter le représentant local de BD.



Becton Dickinson GmbH

Tullastrasse 8 – 12
D-69126 Heidelberg/Germany
Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16
Reception_Germany@europe.bd.com

<http://www.bd.com>
<http://www.bd.com/europe/regulatory/>

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection
BD, BD Logo and all other trademarks are the property of Becton, Dickinson and Company. © 2013 BD