



## BCYE Agar with L-Cysteine

Catalog #	Description
3563720	<b>BCYE Agar with L-Cysteine</b> , prepared plates, 90 mm x 20 dishes

For laboratory use only.

### Intended Use

Nonselective medium for the confirmation of *Legionella* spp. and *Legionella pneumophila* in water (water for human consumption, hot water for sanitation, water for industrial use, natural mineral waters for thermal purposes, water for recreational activities, etc.).

### Principle

*Legionella* are gram-negative bacteria requiring L-cysteine for growth. The principle of the medium relies on the ability of *Legionella* to grow on buffered agar containing yeast extract, activated charcoal, L-cysteine,  $\alpha$ -ketoglutarate, and iron. *Legionella* form gray-blue colonies varying sometimes to yellow, green, white, brown, purple, and pink. Presumptive *Legionella* must be subcultured on both BCYE with L-cysteine and on BCYE without L-Cysteine, Nutrient Agar for Water Testing, or Columbia Agar with Horse Blood. *Legionella* grow only on L-cysteine-supplemented media.

### Theoretical Composition

Yeast extract	10 g
Activated charcoal	2 g
ACES buffer (2-[(2-amino-oxoethyl)-amino] ethanesulfonic)	10 g
$\alpha$ -ketoglutarate (potassium salt)	1 g
Potassium hydroxide 1 M	40 ml
Ferric pyrophosphate	250 mg
L-cysteine hydrochloride, anhydrous	400 mg
Agar	12 g
Distilled water	960 ml
Final pH at 25°C = 6.9 $\pm$ 0.2	

### Shelf Life and Storage

Store ready-to-use media at 2–8°C in a dark place. Expiration date is shown on the package.

### Required Materials Not Supplied

This list is not exhaustive.

#### Equipment

- All usual laboratory equipment
- Filtration device
- Centrifuge
- Sonicator
- Thermostatically controlled incubator or incubation room, precise to  $\pm 1^\circ\text{C}$
- Magnifying glass
- Microscope for measuring fluorescence
- Portable UV observation chamber without UV lamp (catalog #3550717)
- Wood lamp for observation chamber (catalog #3550718)

## Supplies

- Forceps for handling membranes
- Sterile filtration polycarbonate membranes ( $\varnothing = 47$  mm,  $0.45 \mu\text{m}$ )
- GVPC Agar (catalog #3563717, prepared plates 90 mm x 20; 3563719, prepared plates 90 mm x 100)
- BCYE Agar Biplate (catalog #3563718, prepared plates 90 mm x 20)
- BCYE Agar without L-Cysteine (catalog #3563722, prepared plates 90 mm x 20)
- Nutrient Agar for Water Testing (catalog #3563786, prepared plates 90 mm x 20)
- Columbia Agar with Horse Blood (catalog #3563804, prepared plates 90 mm x 20)
- *Legionella pneumophila* Latex Kit (catalog #3562790, 50 tests)
- MonoFluo Kit (catalog #3532514, 24 tests)

## Precautions

- Respect Good Laboratory Practice (EN ISO 8199). Appropriate protection, such as gloves and lab coats, should be worn when working with potentially infectious live bacteria
- Media that have come in contact with water samples should be considered contaminated and should be disposed of in accordance with local rules and regulations
- For SDS product safety information and certificate of analysis, visit [bio-rad.com](http://bio-rad.com)

## Quality Control

Every product manufactured and marketed by Bio-Rad is subject to a quality assurance procedure at all stages, from reception of raw materials through to marketing of the finished products. Each batch of finished product undergoes quality control according to EN ISO 11133 and is marketed only if it satisfies the acceptability criteria. Documentation relative to the production and quality control of each batch is kept on file.

## Protocol

### Inoculation

- Enumerate characteristic colonies on GVPC Agar
- Subculture a minimum of 5 colonies each on both BCYE with L-Cysteine and BCYE without L-Cysteine
- If multiple colony morphologies appear, subculture at least 2 of each type
- Nutrient Agar for Water Testing or Columbia Agar with Horse Blood can be used in place of BCYE Agar without L-Cysteine
- Incubate at  $36^{\circ}\text{C}$  for a minimum of 48 hr and examine after 2–4 days of incubation

### Reading and Interpretation

- *Legionella* will grow characteristic colonies only on the medium with L-cysteine
- Colonies that do not fluoresce under UV light and that agglutinate on the *Legionella pneumophila* Latex Kit and give a positive result on the MonoFluo Kit are *Legionella pneumophila*

## References

- Edelstein PH (1981). Improved semi-selective medium for isolation of *Legionella pneumophila* from contaminated clinical and environmental specimens. *J Clin Microbiol* 14, 298–303.
- Feeley JC et al. (1979). Charcoal-yeast extract agar: primary isolation medium for *Legionella pneumophila*. *J Clin Microbiol* 10, 437–441.
- ISO 11133:2014. Microbiology of food, animal feed and water — Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
- ISO 11731:2017. Water quality — Enumeration of *Legionella*.
- NF T90-431 (2017). Water quality – Detection and enumeration of *Legionella* spp. and *Legionella pneumophila* — Method by direct inoculation and after concentration by membrane filtration or centrifugation.

## Revision History

<b>Release date</b>	<b>Document number</b>	<b>Change</b>
April 2021	5046 Ver A	<ul style="list-style-type: none"><li>- Major change</li><li>- New document design</li><li>- Document number change — previous version: V2_04-08-11</li></ul>

BIO-RAD is a trademark of Bio-Rad Laboratories, Inc. MONOFLUO is a trademark of Bio-Rad Europe GmbH in certain jurisdictions. All trademarks used herein are the property of their respective owner.

## BCYE Agar with L-Cysteine

Référence	Description
3563720	<b>BCYE Agar with L-Cysteine</b> , boîtes préparées, 90 mm x 20 boîtes

Uniquement pour une utilisation en laboratoire.

### Usage prévu

Milieu non sélectif pour la confirmation des *Legionella* spp. et *Legionella pneumophila* dans les eaux (eau de consommation humaine, eau chaude sanitaire, eau à usage industriel, eaux minérales naturelles utilisées à des fins thermales, eau pour la pratique d'activités récréatives, etc.).

### Principe

Les légionelles sont des bactéries à Gram négatif, dont le développement nécessite de la L-cystéine. Le principe du milieu repose sur la capacité des légionelles à se développer sur une gélose tamponnée contenant de l'extrait de levure, du charbon actif, de la L-cystéine, de l' $\alpha$ -kétoglutarate et du fer.

Les légionelles forment des colonies gris-bleu, variant parfois au jaune, vert, blanc, brun, violet et rose. Les légionelles présumées doivent être mises en sous-culture à la fois sur BCYE avec L-cystéine et sur BCYE sans L-cystéine, gélose nutritive pour les analyses d'eau ou gélose Columbia au sang de cheval. Les légionelles se développent uniquement sur des milieux supplémentés en L-cystéine.

### Formule théorique

Extrait de levure	10 g
Charbon actif	2 g
Tampon ACES (acide N-(2-acétamido)-2-aminoéthanesulfonique)	10 g
$\alpha$ -Kétoglutarate (sel de potassium)	1 g
Hydroxyde de potassium 1 M	40 ml
Pyrophosphate de fer	250 mg
Chlorhydrate de L-cystéine, anhydre	400 mg
Agar	12 g
Eau distillée	960 ml

pH final à 25 °C = 6,9 ± 0,2

### Durée de conservation et stockage

Milieu prêt à l'emploi : 2–8 °C à l'abri de la lumière. Date d'expiration indiquée sur l'emballage.

### Matériel requis non fourni

Liste non exhaustive.

#### Matériel

- Tout le matériel de laboratoire habituel
- Dispositif de filtration
- Centrifugeuse
- Sonicateur
- Étuve ou enceinte thermostatée, précision  $\pm 1$  °C
- Loupe
- Microscope pour la mesure de la fluorescence
- Chambre d'observation UV portable sans lampe UV (n° de référence 3550717)
- Lampe de Wood pour chambre d'observation (n° de référence 3550718)

## Produits

- Pinces pour la manipulation des membranes
- Membranes filtrantes stériles en polycarbonate ( $\varnothing = 47$  mm,  $0,45 \mu\text{m}$ )
- GVPC Agar (n° de référence 3563717, boîtes préparées 90 mm x 20 ; 3563719, boîtes préparées 90 mm x 100)
- BCYE Agar Biplate (n° de référence 3563718, boîtes préparées 90 mm x 20)
- BCYE Agar without L-Cysteine (n° de référence 3563722, boîtes préparées 90 mm x 20)
- Nutrient Agar for Water Testing (n° de référence 3563786, boîtes préparées 90 mm x 20)
- Columbia Agar with Horse Blood (n° de référence 3563804, boîtes préparées 90 mm x 20)
- *Legionella pneumophila* Latex Kit (n° de référence 3562790, 50 tests)
- MonoFluo Kit (n° de référence 3532514, 24 tests)

## Précautions

- Respecter les bonnes pratiques de laboratoire (EN ISO 8199). Porter un équipement de protection approprié, par exemple des gants et une blouse de laboratoire, pour travailler avec des bactéries vivantes potentiellement infectieuses
- Les milieux qui sont entrés en contact avec des échantillons d'eau doivent être considérés comme contaminés et doivent être éliminés conformément aux règles et réglementations locales.
- Pour obtenir les informations sur la sécurité du produit (fiche de données de sécurité, FDS) et le certificat d'analyse, visiter [bio-rad.com](http://bio-rad.com)

## Contrôle qualité

Chaque produit fabriqué et commercialisé par Bio-Rad est soumis à une procédure d'assurance qualité à toutes les étapes, de la réception des matières premières jusqu'à la mise sur le marché du produit fini. Chaque lot de produits finis subit un contrôle qualité conforme à EN ISO 11133 et est mis sur le marché uniquement s'il satisfait aux critères d'acceptabilité. La documentation relative à la production et au contrôle qualité de chaque lot est archivée.

## Protocole

### Inoculation

- Dénombrer les colonies caractéristiques sur gélose GVPC
- Mettre en sous-culture au minimum 5 colonies sur BCYE avec L-cystéine et sur BCYE sans L-cystéine
- Si différentes morphologies de colonie apparaissent, mettre en sous-culture au moins 2 échantillons de chaque type
- La gélose nutritive pour les analyses d'eau ou la gélose Columbia au sang de cheval peuvent être utilisées à la place de la gélose BCYE sans L-cystéine
- Incuber à  $36 \text{ }^\circ\text{C}$  pendant 48 hr au minimum, et examiner après 2 à 4 jours d'incubation

### Lecture et interprétation

- Les légionnelles forment des colonies caractéristiques uniquement sur le milieu avec L-cystéine
- Les colonies ne présentant pas de fluorescence sous lampe UV et qui agglutinent sur *Legionella pneumophila* Latex Kit et donnent un résultat positif sur MonoFluo Kit sont des *Legionella pneumophila*

## Références

Edelstein PH (1981). Improved semi-selective medium for isolation of *Legionella pneumophila* from contaminated clinical and environmental specimens. *J Clin Microbiol* 14, 298–303.

Feeley JC et al. (1979). Charcoal-yeast extract agar: primary isolation medium for *Legionella pneumophila*. *J Clin Microbiol* 10, 437–441.

ISO 11133:2014. Microbiologie des aliments, des aliments pour animaux et de l'eau — Préparation, production, stockage et essais de performance des milieux de culture.

ISO 11731:2017. Qualité de l'eau — Dénombrement des *Legionella*.

NF T90-431 (2017). Qualité de l'eau — Recherche et dénombrement de *Legionella* spp. Et de *Legionella pneumophila* — Méthode par ensemencement direct et après concentration par filtration sur membrane ou centrifugation.

## Historique des révisions

Date de publication	Numéro de document	Modification
Avril 2021	5046 Ver A	<ul style="list-style-type: none"><li>- Modification importante</li><li>- Nouvelle conception de document</li><li>- Modification du numéro de document — version précédente : V2_04-08-11</li></ul>

BIO-RAD est une marque déposée de Bio-Rad Laboratories, Inc. MONOFLUO est une marque déposée de Bio-Rad Europe GmbH dans certaines juridictions. Toutes les marques déposées utilisées dans ce document appartiennent à leur propriétaire respectif.

## BCYE Agar with L-Cysteine

Katalog-Nr. Beschreibung

3563720 **BCYE Agar with L-Cysteine**, gebrauchsfertige Agarplatten, 20 Agarplatten x 90 mm

Nur für die Verwendung im Labor.

### Verwendungszweck

Nichtselektives Medium zur Bestätigung von *Legionella* spp. und *Legionella pneumophila* in Wasserproben (Trinkwasser, Warmwasser für sanitäre Anlagen, Wasser für industrielle Zwecke, natürliches Mineralwasser für Thermalzwecke, Wasser für Freizeitaktivitäten usw.).

### Prinzip

Legionellen sind gramnegative Bakterien, die zum Wachstum L-Cystein benötigen. Das Prinzip des Mediums beruht auf der Fähigkeit von *Legionella*, auf gepuffertem Agar zu wachsen, der Hefeextrakt, Aktivkohle, L-Cystein,  $\alpha$ -Ketoglutarat und Eisen enthält.

Legionellen bilden grau-blaue Kolonien, deren Farbe mitunter auch zu gelb, grün, weiß, braun, violett und rosa variiert.

Verdächtige Legionellen-Kolonien müssen sowohl auf BCYE-Agar mit L-Cystein als auch auf BCYE-Agar ohne L-Cystein, auf Nährstoffagar für die Wasseranalyse oder auf Columbia-Agar mit Pferdeblut subkultiviert werden. *Legionellen* wachsen nur auf Medium mit L-Cystein-Zusatz.

### Theoretische Zusammensetzung

Hefeextrakt	10 g
Aktivkohle	2 g
ACES-Puffer (2-[(2-Amino-oxoethyl)-amino]ethansulfonsäure)	10 g
$\alpha$ -Ketoglutarat (Kaliumsalz)	1 g
Kaliumhydroxid 1 M	40 ml
Eisen(III)-pyrophosphat	250 mg
L-Cysteinhydrochlorid, wasserfrei	400 mg
Agar	12 g
Destilliertes Wasser	960 ml

Finaler pH-Wert bei 25°C = 6,9 ± 0,2

### Haltbarkeit und Lagerung

Das gebrauchsfertige Medium bei 2–8°C vor Licht geschützt lagern. Das Verfallsdatum ist auf der Packung angegeben.

### Zusätzlich benötigtes Material

Diese Liste ist nicht vollständig.

#### Geräte

- Alle üblichen Laborgeräte
- Filtrationsvorrichtung
- Zentrifuge
- Ultraschallbad
- Thermostatisch regulierter Inkubator oder Inkubationskammer, Genauigkeit bis ± 1°C
- Lupe
- Mikroskop zur Fluoreszenzmessung
- Tragbare UV-Beobachtungskammer ohne UV-Lampe (Kat.-Nr. 3550717)
- Wood-Lampe für die Beobachtungskammer (Kat.-Nr. 3550718)

### Zubehör

- Pinzette zur Handhabung von Membranen
- Sterile Filtermembranen aus Polycarbonat (Ø = 47 mm, 0,45 µm)
- GVPC Agar (Kat.-Nr. 3563717, 20 gebrauchsfertige Agarplatten x 90 mm; Kat.-Nr. 3563719, 100 gebrauchsfertige Agarplatten x 90 mm)
- BCYE Agar Biplate (Kat.-Nr. 3563718, 20 gebrauchsfertige Agarplatten x 90 mm)
- BCYE Agar without L-Cysteine (Kat.-Nr. 3563722, 20 gebrauchsfertige Agarplatten x 90 mm)
- Nutrient Agar for Water Testing (Kat.-Nr. 3563786, 20 gebrauchsfertige Agarplatten x 90 mm)
- Columbia Agar with Horse Blood (Kat.-Nr. 3563804, 20 gebrauchsfertige Agarplatten x 90 mm)
- *Legionella pneumophila* (Kat.-Nr. 3562790, 50 Tests)
- MonoFluo Kit (Kat.-Nr. 3532514, 24 Tests)

### Vorsichtsmaßnahmen

- Es sind die Richtlinien der guten Laborpraxis zu beachten (EN ISO 8199). Bei der Arbeit mit potenziell infektiösen lebenden Bakterien sollte angemessene Schutzkleidung wie Handschuhe und Laborkittel getragen werden.
- Medien, die mit Wasserproben in Kontakt gekommen sind, sind als kontaminiert zu betrachten und den vor Ort geltenden Vorschriften und Bestimmungen entsprechend zu entsorgen.
- Das Sicherheitsdatenblatt (SDS) und das Analysezertifikat für das Produkt sind auf **bio-rad.com** erhältlich.

### Qualitätskontrolle

Jedes von der Firma Bio-Rad hergestellte und verkaufte Produkt unterliegt vom Rohstoffeingang bis zur Vermarktung der Fertigprodukte einer umfassenden Qualitätssicherung. Jede Charge des fertigen Produkts wird einer Qualitätskontrolle gemäß EN ISO 11133 unterzogen und gelangt nur dann in den Vertrieb, wenn sie die Akzeptanzkriterien erfüllt. Die Unterlagen zur Produktion und Qualitätskontrolle jeder Charge werden archiviert.

### Protokoll

#### Inokulation

- Charakteristische Kolonien auf GVPC Agar zählen.
- Jeweils mindestens 5 Kolonien auf BCYE Agar mit L-Cystein und auf BCYE Agar ohne L-Cystein subkultivieren.
- Wenn Kolonien unterschiedlicher Morphologien vorhanden sind, von jedem Typ mindestens 2 subkultivieren.
- Anstelle von BCYE Agar ohne L-Cystein kann auch Nutrient Agar für die Wasseranalyse oder Columbia-Agar mit Pferdeblut verwendet werden.
- Mindestens 48 hr bei 36°C inkubieren und nach 2 –4 Tagen Inkubation untersuchen.

#### AbleSEN und Auswerten der Ergebnisse

- *Legionellen* bilden nur auf Medium mit L-Cystein charakteristische Kolonien.
- Bei Kolonien, die unter UV-Licht nicht fluoreszieren, im *Legionella pneumophila* Latex Kit agglutinieren und im MonoFluo Kit positiv sind, handelt es sich um *Legionella pneumophila*.

### Literatur

Edelstein PH (1981). Improved semi-selective medium for isolation of *Legionella pneumophila* from contaminated clinical and environmental specimens. J Clin Microbiol 14, 298–303.

Feeley JC et al. (1979). Charcoal-yeast extract agar: primary isolation medium for *Legionella pneumophila*. J Clin Microbiol 10, 437–441.

ISO 11133:2014. Mikrobiologie von Lebensmitteln, Futtermitteln und Wasser — Vorbereitung, Herstellung, Lagerung und Leistungsprüfung von Nährmedien.

ISO 11731:2017. Wasserbeschaffenheit — Zählung von Legionellen.

NF T90-431 (2017). Water quality – Detection and enumeration of *Legionella* spp. and *Legionella pneumophila* — Method by direct inoculation and after concentration by membrane filtration or centrifugation.



## Revisionshistorie

Freigabedatum	Dokumentnummer	Änderung
April 2021	5046 Ver A	<ul style="list-style-type: none"><li>- Bedeutende Änderung</li><li>- Neues Dokumentdesign</li><li>- Änderung der Dokumentnummer — vorhergehende Version: V2_04-08-11</li></ul>

BIO-RAD ist eine Marke der Bio-Rad Laboratories, Inc. MONOFLUO ist eine Marke der Bio-Rad Europe GmbH in bestimmten Ländern. Alle hier genannten Marken sind Eigentum der jeweiligen Firmen.

## BCYE Agar with L-Cysteine

N. catalogo Descrizione

3563720 **BCYE Agar with L-Cysteine**, piastre pronte all'uso, 90 mm x 20 piastre

-----  
Esclusivamente per uso in laboratorio.  
-----

### Uso previsto

Terreno non selettivo per la conferma di *Legionella* spp. e *Legionella pneumophila* in acqua (acqua per consumo umano, acqua calda a fini igienico-sanitari, acqua per uso industriale, acque minerali naturali per fini termali, acqua per attività ricreative. ecc.).

### Principio

Le *Legionelle* sono batteri gram-negativi che richiedono L-cisteina per la crescita. Il principio del terreno si basa sulla capacità della *Legionella* di moltiplicarsi su agar tamponato contenente estratto di lievito, carbone attivo, L-cisteina,  $\alpha$ -chetoglutarato e ferro.

La *Legionella* forma colonie grigio-blu che variano a volte in giallo, verde, bianco, marrone, viola e rosa. La presunta *Legionella* deve essere subcoltivata su BCYE con L-cisteina e BCYE senza L-Cisteina, Nutrient Agar per analisi dell'acqua o Columbia Agar con sangue di cavallo. La *Legionella* cresce solo su terreni integrati con L-cisteina.

### Composizione teorica

Estratto di lievito	10 g
Carbone attivo	2 g
Tampone ACES (2-[(2-ammino-ossetil)-ammino] etansolfonico)	10 g
$\alpha$ -chetoglutarato (sale di potassio)	1 g
Idrossido di potassio 1 M	40 ml
Pirofosfato ferrico	250 mg
Idrocloruro di L-cisteina, anidro	400 mg
Terreno di coltura agar	12 g
Acqua distillata	960 ml

pH finale a 25°C = 6,9  $\pm$  0,2

### Durata e conservazione

Conservare i terreni pronti per l'uso a 2-8°C in un luogo buio. La data di scadenza è indicata sulla confezione.

### Materiali richiesti non in dotazione

Il presente elenco non è esaustivo.

#### Apparecchiatura

- Tutta la normale apparecchiatura di laboratorio
- Dispositivo di filtrazione
- Centrifuga
- Sonicatore
- Incubatore o camera di incubazione con controllo termostatico, con precisione di  $\pm 1^\circ\text{C}$
- Lente d'ingrandimento
- Microscopio per misurazione della fluorescenza
- Camera di osservazione UV portatile senza lampada UV (catalogo #3550717)
- Lampada de Wood per camera di osservazione (n. catalogo #3550718)

### Materiali in dotazione

- Pinze per manipolazione delle membrane
- Membrane di filtrazione sterili in policarbonato ( $\varnothing = 47$  mm,  $0,45$   $\mu\text{m}$ )
- GVPC Agar (n. catalogo 3563717, piastre pronte per l'uso 90 mm x 20; 3563719, piastre pronte per l'uso 90 mm x 100)
- BCYE Agar Biplate (n. catalogo 3563718, piastre pronte per l'uso 90 mm x 20)
- BCYE Agar without L-Cysteine (n. catalogo 3563722, piastre pronte per l'uso 90 mm x 20)
- Nutrient Agar for Water Testing (n. catalog 3563786, piastre pronte per l'uso 90 mm x 20)
- Columbia Agar with Horse Blood (n. catalogo 3563804, piastre pronte per l'uso 90 mm x 20)
- *Legionella pneumophila* Latex Kit (n. catalogo 3562790, 50 test)
- MonoFluo Kit (n. catalog #3532514, 24 test)

### Precauzioni

- Rispettare le buone pratiche di laboratorio (EN ISO 8199). Indossare protezioni adeguate, come guanti e camici da laboratorio, quando si manipolano batteri vivi potenzialmente infettivi
- I terreni entrati in contatto con campioni di acqua devono essere considerati come contaminati e quindi smaltiti in conformità alle normative e direttive locali
- Per informazioni sulla sicurezza del prodotto (schede dati di sicurezza) e il certificato di analisi, visitare [bio-rad.com](http://bio-rad.com)

### Controllo qualità

Tutti i prodotti fabbricati e commercializzati dalla società Bio-Rad sono sottoposti a un sistema di assicurazione qualità dal momento del ricevimento delle materie prime fino alla commercializzazione dei prodotti finiti. Ciascun lotto di prodotto finito è soggetto a un controllo di qualità conformemente alla norma EN ISO 11133 e viene messo in commercio soltanto se risulta conforme ai criteri di accettazione. La documentazione relativa alla produzione e al controllo di qualità di ciascun lotto è conservata a cura del fabbricante.

### Protocollo

#### Inoculazione

- Contare le colonie caratteristiche su GVPC Agar
- Eseguire la subcoltura di un minimo di 5 colonie ciascuno su BCYE con L-Cisteina e BCYE senza L-Cisteina
- Se compaiono più morfologie di colonie, eseguire la subcoltura di almeno 2 di ogni tipo
- È possibile utilizzare Nutrient Agar per analisi dell'acqua o Columbia Agar con sangue di cavallo anziché BCYE Agar senza L-Cisteina
- Incubare a  $36^{\circ}\text{C}$  per un minimo di 48 hr ed esaminare dopo 2-4 giorni di incubazione

#### Lettura e interpretazione

- La *Legionella* sviluppa colonie caratteristiche solo sul terreno con L-cisteina
- Le colonie che non emettono fluorescenza ai raggi UV e che agglutinano con *Legionella pneumophila* Latex Kit e forniscono un risultato positivo con MonoFluo Kit sono *Legionella pneumophila*

### Riferimenti

Edelstein PH (1981). Improved semi-selective medium for isolation of *Legionella pneumophila* from contaminated clinical and environmental specimens. *J Clin Microbiol* 14, 298–303.

Feeley JC et al. (1979). Charcoal-yeast extract agar: primary isolation medium for *Legionella pneumophila*. *J Clin Microbiol* 10, 437–441.

ISO 11133:2014. Microbiology of food, animal feed and water — Preparation, production, storage and performance testing of culture media.

ISO 11731:2017. Water quality — Enumeration of *Legionella*.

NF T90-431 (2017). Water quality – Detection and enumeration of *Legionella* spp. and *Legionella pneumophila* — Method by direct inoculation and after concentration by membrane filtration or centrifugation.

## Cronologia delle revisioni

<b>Data di pubblicazione</b>	<b>Numero documento</b>	<b>Modifica</b>
Aprile 2021	5046 Ver A	<ul style="list-style-type: none"><li>- Modifica importante</li><li>- Nuova struttura del documento</li><li>- Modifica al numero di documento – versione precedente: V2_04/-08-11</li></ul>

BIO-RAD è un marchio registrato di Bio-Rad Laboratories, Inc. MONOFLUO è un marchio registrato di Bio-Rad Europe GmbH in determinate giurisdizioni. Tutti i marchi registrati qui utilizzati sono di proprietà dei rispettivi titolari.

## BCYE Agar with L-Cysteine

Nº catálogo Descrição

3563720 **BCYE Agar with L-Cysteine**, placas preparadas, 90 mm x 20 placas

Somente para uso em laboratório.

### Uso previsto

Meio não seletivo para a confirmação de *Legionella* spp. e *Legionella pneumophila* em água (água para consumo humano, água quente para saneamento, água para uso industrial, águas minerais naturais para fins termais, água para atividades recreativas, etc.).

### Princípio

*Legionella* são bactérias gram-negativas que requerem L-cisteína para o crescimento. O princípio do meio depende da capacidade da *Legionella* de crescer em ágar tamponado contendo extrato de levedura, carvão ativado, L-cisteína,  $\alpha$ -cetogluturato e ferro.

A *Legionella* forma colônias cinza-azuladas variando às vezes para amarelo, verde, branco, marrom, roxo e rosa. A presumível *Legionella* deve ser subcultivada em BCYE com L-cisteína e em BCYE sem L-cisteína, Agar Nutriente para Teste de Água ou Agar Columbia com Sangue de Cavalos. A *Legionella* cresce apenas em meios suplementados com L-cisteína.

### Composição teórica

Extrato de levedura	10 g
Carvão ativado	2 g
Tampão ACES (2-[(2-amino-oxoetil)-amino] etanossulfônico)	10 g
$\alpha$ -cetogluturato (sal de potássio)	1 g
Hidróxido de potássio 1 M	40 ml
Pirofosfato férrico	250 mg
L-cysteine hydrochloride, anhydrousCloridrato de L-cisteína, anidro	400 mg
Agar	12 g
Água destilada	960 ml
pH final em 25°C = 6,9 $\pm$ 0,2	

### Prazo de validade e armazenamento

Armazene meios prontos para uso em 2–8 °C em local escuro. A data de validade é mostrada na embalagem.

### Materiais necessários não fornecidos

Essa lista não é exaustiva.

#### Equipamento

- Todo o equipamento comum de laboratório
- Dispositivo de filtragem
- Centrífuga
- Sonicador
- Incubadora ou sala de incubação controlada termostaticamente, com precisão de  $\pm 1$  °C
- Lupa
- Microscópio para medição de fluorescência
- Câmara de observação UV portátil sem lâmpada UV (Nº do catálogo 3550717)
- Lâmpada de Wood para câmara de observação (Nº do catálogo 3550718)

### Suprimentos

- Pinça para manuseio de membranas
- Membranas de policarbonato de filtragem estéril ( $\varnothing = 47$  mm, 0,45  $\mu$ m)
- GVPC Agar (N° do catálogo 3563717, placas preparadas 90 mm x 20; 3563719, placas preparadas 90 mm x 100)
- BCYE Agar Biplate (N° do catálogo 3563718, placas preparadas 90 mm x 20)
- BCYE Agar without L-Cysteine (N° do catálogo 3563722, placas preparadas 90 mm x 20)
- Columbia Agar with Horse Blood (N° do catálogo 3563786, placas preparadas 90 mm x 20)
- Columbia Agar with Horse Blood (N° do catálogo 3563804, placas preparadas 90 mm x 20)
- *Legionella pneumophila* Latex Kit (N° do catálogo 3562790, 50 testes)
- MonoFluo Kit (N° do catálogo 3532514, 24 testes)

### Precauções

- Respeite as Boas Práticas de Laboratório (EN ISO 8199). Proteção adequada, como luvas e jalecos, deve ser usada ao trabalhar com bactérias vivas potencialmente infecciosas
- Os meios que tiverem entrado em contato com amostras de água devem ser considerados contaminados e descartados de acordo com as regras e regulamentos locais
- Para informações de segurança do produto SDS e certificado de análise, visite [bio-rad.com](http://bio-rad.com)

### Controle de Qualidade

Todos os produtos fabricados e comercializados pela Bio-Rad estão sujeitos aos procedimentos de garantia de qualidade em todas as etapas, desde a recepção da matéria-prima até a comercialização do produto final. Cada lote de produto acabado passa por um controle de qualidade de acordo com a EN ISO 11133 e é comercializado apenas quando satisfaz os critérios de aceitabilidade. A documentação relativa à produção e ao controle de qualidade de cada lote é mantida arquivada.

### Protocolo

#### Inoculação

- Enumere colônias características no Agar GVPC
- Faça a subcultura de no mínimo 5 colônias em cada BCYE com L-Cisteína e BCYE sem L-Cisteína
- Se várias morfologias de colônia aparecerem, faça uma subcultura de pelo menos 2 de cada tipo
- O Agar Nutriente para Teste de Água ou Agar Columbia com Sangue de Cavalo pode ser usado no lugar do BCYE Agar sem L-cisteína
- Incubar a 36 °C por um mínimo de 48 hr e examinar após 2–4 dias de incubação

#### Leitura e Interpretação

- A *Legionella* crescerá em colônias características apenas no meio com L-cisteína
- As colônias que não apresentam fluorescência sob luz ultravioleta e que se aglutinam no Kit de látex de *Legionella pneumophila* e dão um resultado positivo no Kit MonoFluo são *Legionella pneumophila*

### Referências

Edelstein PH (1981). Improved semi-selective medium for isolation of *Legionella pneumophila* from contaminated clinical and environmental specimens. *J Clin Microbiol* 14, 298–303.

Feeley JC et al. (1979). Charcoal-yeast extract agar: primary isolation medium for *Legionella pneumophila*. *J Clin Microbiol* 10, 437–441.

ISO 11133:2014. Microbiology of food, animal feed and water — Preparation, production, storage and performance testing of culture media.

ISO 11731:2017. Water quality — Enumeration of *Legionella*.

NF T90-431 (2017). Water quality – Detection and enumeration of *Legionella* spp. and *Legionella pneumophila* — Method by direct inoculation and after concentration by membrane filtration or centrifugation.

## Histórico de Revisão

<b>Data de lançamento</b>	<b>Número do documento</b>	<b>Alteração</b>
Abril de 2021	5046 Ver A	<ul style="list-style-type: none"><li>- Alteração importante</li><li>- Novo design de documento</li><li>- Alteração do número do documento — versão anterior: V2_04-08-11</li></ul>

BIO-RAD é uma marca comercial da Bio-Rad Laboratories, Inc. MONOFLUO é uma marca comercial da Bio-Rad Europe GmbH em certas jurisdições. Todas as marcas comerciais usadas neste documento são de propriedade de seus respectivos proprietários.

## BCYE Agar with L-Cysteine

Referencia # Descripción

3563720 **BCYE Agar with L-Cysteine**, placas preparadas, placas de 90 mm x 20

Sólo para uso en laboratorio.

### Uso previsto

Medio no selectivo para la confirmación de *Legionella* spp. y *Legionella pneumophila* en agua (agua para consumo humano, agua caliente para saneamiento, agua para uso industrial, aguas minerales naturales para fines termales, agua para actividades recreativas, etc.).

### Principio

La *Legionella* son bacterias gram-negativas que requieren L-cisteína para crecer. El principio del medio se basa en la capacidad de la *Legionella* para crecer en agar tamponado que contiene extracto de levadura, carbón activado, L-cisteína,  $\alpha$ -cetoglutarato y hierro.

La *Legionella* forma colonias de color gris-azulado que a veces varían a amarillo, verde, blanco, marrón, púrpura y rosa. Las presuntas *Legionella* deben subcultivarse tanto en BCYE con L-cisteína como en BCYE sin L-cisteína, en agar nutritivo para análisis de agua o en agar Columbia con sangre de caballo. La *Legionella* crece solo en medios suplementados con L-cisteína.

### Composición teórica

Extracto de levadura	10 g
Carbón activado	2 g
Tampón ACES (2-[(2-amino-oxoetil)-amino] etanosulfónico)	10 g
$\alpha$ -cetoglutarato (sal de potasio)	1 g
Hidróxido de potasio 1 M	40 ml
Pirofosfato férrico	250 mg
Clorhidrato de L-cisteína, anhidro	400 mg
Agar	12 g
Agua destilada	960 ml
pH final a 25 °C = 6,9 $\pm$ 0,2	

### Vida útil y almacenamiento

Almacenar los medios listos para su uso a 2-8 °C en un lugar oscuro. La fecha de caducidad figura en el envase.

### Materiales necesarios, pero no suministrados

Esta lista no es exhaustiva.

#### Equipos

- Todo el equipo habitual del laboratorio
- Equipo de filtración
- Centrifuga
- Sonificador
- Incubadora o sala de incubación controlada termostáticamente, con una precisión de  $\pm 1$  °C
- Lupa
- Microscopio para medir la fluorescencia
- Cámara de observación UV portátil sin lámpara UV (referencia #3550717)
- Lámpara de Wood para la cámara de observación (referencia #3550718)



## Fungibles

- Fórceps para manipular las membranas
- Membranas de filtración de policarbonato estériles ( $\varnothing = 47$  mm, 0,45  $\mu$ m)
- GVPC Agar (referencia #3563717, placas preparadas, placas de 90 mm x 20; 3563719, placas preparadas de 90 mm x 100)
- BCYE Agar Biplate (referencia #3563718, placas preparadas 90 mm x 20)
- BCYE Agar without L-Cysteine (referencia #3563722, placas preparadas 90 mm x 20)
- Nutrient Agar for Water Testing (referencia #3563786, placas preparadas, placas de 90 mm x 20)
- Columbia Agar with Horse Blood (referencia #3563804, placas preparadas 90 mm x 20)
- *Legionella pneumophila* Latex Kit (referencia #3562790, 50 pruebas)
- MonoFluo Kit (referencia #3532514, 24 pruebas)

## Precauciones

- Deben respetarse las buenas prácticas de laboratorio (EN ISO 8199). Usar protección adecuada, como guantes y batas de laboratorio, cuando se trabaja con bacterias vivas potencialmente infecciosas
- Los medios que han estado en contacto con muestras de agua deben considerarse contaminados y deben eliminarse de conformidad con las normas y reglamentos locales
- Visite [bio-rad.com](http://bio-rad.com) para obtener información de seguridad del producto (SDS) y certificados de análisis

## Control de calidad

Todos los productos fabricados y comercializados por Bio-Rad están sujetos a un protocolo de garantía de calidad en todas las etapas, desde la recepción de las materias primas hasta la comercialización de los productos terminados. Cada lote de producto terminado se somete a un control de calidad según la norma EN ISO 11133 y sólo se comercializa si cumple los criterios de aceptabilidad. La documentación relativa a la producción y al control de calidad de cada lote se mantiene archivada.

## Protocolo

### Inoculación

- Contabilizar las colonias características en el agar GVPC
- Subcultivar un mínimo de 5 colonias, cada una tanto en BCYE con L-cisteína como en BCYE sin L-cisteína
- Si aparecen múltiples morfologías de colonias, subcultivar al menos 2 de cada tipo
- Se puede utilizar el agar nutritivo para análisis de agua o el agar Columbia con sangre de caballo en lugar del agar BCYE sin L-cisteína
- Incubar a 36 °C durante un mínimo de 48 hr y examinar al cabo de 2-4 días de incubación

### Lectura e interpretación

- La *Legionella* desarrollará colonias características solo en el medio con L-cisteína
- Las colonias que no son fluorescentes bajo la luz ultravioleta y que se aglutinan en el *Legionella pneumophila* Latex Kit y dan un resultado positivo en el MonoFluo Kit son *Legionella pneumophila*

## Referencias

Edelstein PH (1981). Improved semi-selective medium for isolation of *Legionella pneumophila* from contaminated clinical and environmental specimens. *J Clin Microbiol* 14, 298–303.

Feeley JC et al. (1979). Charcoal-yeast extract agar: primary isolation medium for *Legionella pneumophila*. *J Clin Microbiol* 10, 437–441.

ISO 11133:2014. Microbiology of food, animal feed and water — Preparation, production, storage and performance testing of culture media.

ISO 11731:2017. Water quality — Enumeration of *Legionella*.

NF T90-431 (2017). Water quality – Detection and enumeration of *Legionella* spp. and *Legionella pneumophila* — Method by direct inoculation and after concentration by membrane filtration or centrifugation.

## Historial de revisiones

Fecha de publicación	N.º de documento	Cambio
Abril de 2021	5046 Ver A	<ul style="list-style-type: none"><li>- Cambio significativo</li><li>- Nuevo diseño del documento</li><li>- Cambio en el número de documento - versión anterior: V2_04-08-11</li></ul>

BIO-RAD es una marca registrada de Bio-Rad Laboratories, Inc. MONOFLUO es una marca registrada de Bio-Rad Europe GmbH en diversos países. Todas las marcas comerciales aquí indicadas son propiedad de sus respectivos propietarios.